UNIVERSITE DE BORDEAUX
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1949-1950 — N° 64

LES CONTROLES BIOLOGIQUES DANS LES TRAITEMENTS par la STREPTOMYCINE

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le Lundi 15 Mai 1950

PAR

René-Vincent JEANTET

né à LANGON (Gironde), le 16 Août 1921

Examinateurs de la Thèse :

MM. DAMADE, professeur, *Président*
AUBERTIN, professeur
SARIC, agrégé
TRAISSAC, agrégé
Juges

BORDEAUX
IMPRIMERIE J. PECHADE
20, rue Margaux, 20

1950

JEANTET (René-Vincent)

Les Contrôles biologiques dans les traitements par la streptomycine. — Bordeaux, impr. J. Pechade, 1950. In-8°, 176 p., fig.

(*Thèse Médec. Bordeaux. 1949-1950. N° 64.*)

JEANTET (René-Vincent)

Les Contrôles biologiques dans les traitements par la streptomycine. — Bordeaux, impr. J. Pechade, 1950. In-8°, 176 p., fig.

(*Thèse Médec. Bordeaux. 1949-1950. N° 64.*)

JEANTET (René-Vincent)

Les Contrôles biologiques dans les traitements par la streptomycine. — Bordeaux, impr. J. Pechade, 1950. In-8°, 176 p., fig.

(*Thèse Médec. Bordeaux. 1949-1950. N° 64.*)

JEANTET (René-Vincent)

Les Contrôles biologiques dans les traitements par la streptomycine. — Bordeaux, impr. J. Pechade, 1950. In-8°, 176 p., fig.

(*Thèse Médec. Bordeaux. 1949-1950. N° 64.*)

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41538105_0077

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1949-1950 — N° 64

LES CONTROLES BIOLOGIQUES DANS LES TRAITEMENTS par la STREPTOMYCINE

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le Lundi 15 Mai 1950

PAR

René-Vincent JEANTET

né à LANGON (Gironde), le 16 Août 1921

Examinateurs de la Thèse

MM. DAMADE, professeur, *Président*
AUBERTIN, professeur
SARIC, agrégé
TRAISSAC, agrégé
Juges

BORDEAUX
IMPRIMERIE J. PECHADE
20, rue Margaux, 20

1950

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYEN HONORAIRE : M. R. DUPÉRIÉ

DOYEN : M. G. PORTMANN

ASSESSEUR : M. CHELLE

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. DENIGÈS, A. MANDOUL, PETGES, GUYOT, ANDÉRODIAS ROCHER, LANDE, DUVERGEY, CARLES, LEURET, PERY, LABAT. CHARRIER, DUBREUIL.

PROFESSEURS :

MM.	
Clinique médicale	DUPÉRIÉ.
id.	CREYX.
Clinique chirurgicale	PAPIN.
Clinique chirurgicale	MASSE.
Clinique d'Accouchements	RIVIÈRE.
Clinique Gynécologique	MAGENDIE.
Anatomie pathologique et microscopie clinique	DE GRAILLY.
Anatomie	VILLEMIN.
Anatomie générale et histologie	N.
Hygiène et clin. de la tuberculose	PIÉCHAUD.
Médecine légale et Médecine du travail	DERVILLEE.
Electroradiologie et clin. d'électricité médicale.	REBOUL.
Chimie	CHELLE.
Matière médicale	GOLSE.
Pharmacie	VITTE.
Physiologie	FABRE.
Clin. méd. des mal. des enfants	FONTAN.
Zoologie et parasitologie	SIGALAS.

MM.	
Médecine expérimentale	AUBERTIN
Clinique ophtalmologique	BEAUVIEUX.
Clinique chirurg. infantile et orthopedie	LOUBAT.
Clinique des maladies infectieuses	DAMADE.
Chimie biologique et médicale	N...
Physique médicale et pharmaceutique	PIFFAULT.
Médec. coloniale et clin. des mal. exotiques	BONNIN.
Clinique des malad. cutanées et syphilitiques	JOULIA.
Clinique des maladies des voies urinaires	DARGET.
Clinique des malad. nerveuses et mentales	DELMAS-MARSALET
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	PORTMANN
Toxicologie et hygiène appliquée	CASTAGNOU.
Clinique odonto-stomatologique	DUBECQ.
Botanique et cryptogamie	GIRARD.
Thérapeutique	BROUSTET.

PROFESSEURS SANS CHAIRE : MM. PERRENS (Maladies mentales). - DUFOUR (Anatomie)
MESNARD (Pharmacie) - TAYEAU (Chimie biologique)

MAITRES DE CONFÉRENCES AGRÉGÉS :

MM.		MM.	
Parasitologie	PAUTRIZEL	Pharmacie (1re Section)	R. GOLSE
Physiologie	Mlle ROUGIER	Pharmacie (2e Section)	MASQUELIER
Bactériologie	MOUSTARDIER	Pharmacie (3e Section)	CAZAUX

MAITRE DE CONFÉRENCES : M. BLANQUET (Physique pharmaceutique)

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

MM.		MM.	
Médecine Générale	SARIC.	Ophtalmologie	BESSIERE
id.	DUBARRY.	Oto-rhino-laryngologie	DESPONS.
id.	F.-J. TRAISSAC	Dermatologie et syphiligraphie	LE COULANT
id.	BERGOUIGNAN	Histologie	MAYER
Chirurgie Générale	LEVY	Pédiatrie et Puériculture	VERGER.
id.	POUYANNE.	Médecine légale et Médecine du travail	L'ÉPÉE.
id.	LAUMONIER	Electroradiologie	LACHAPÈLE.
id.	CHAVANNAZ.	Odonto-stomatologie	MARONNEAUD
Chimie biologique	N...	Urologie	LANGE
Obstétrique	MAHON.		
id.	CHASTRUSSE		

COURS COMPLÉMENTAIRES :

MM.		MM.	
Médecine opératoire	DUFOUR	Pharmacie galénique	MESNARD.
Accouchements	MAHON	Organographie et Physiologie végétale	TEMPERE
Puériculture	N...	Chimie Biologique	NEUZIL
Législation pharmaceutique	POPLAWSKI.	Pathologie chirurgicale	LAUMONIER
id.	COUSTOU	id	VILLAR
Anatomie	RIGAUD.	Zoologie pharmaceutique	BAILENGER
Chimie minérale	BABIN	Hydrologie pharmaceutique	CAZAUX
Cryptogamie	LAUBIE		

Le Secrétaire de la Faculté : ROUGERIE.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

A MES PARENTS

à qui je dois tout ce que je suis.

A LA MÉMOIRE DE MON GRAND-PÈRE
A MA GRAND'MÈRE

qui firent mon enfance si douce.

A MA FAMILLE

A MA FEMME

A LA MÉMOIRE DE MON AMI

JEAN SCHOTT
OFFICIER DES FORCES FRANÇAISES LIBRES
CHEF DU RÉSEAU D'ESPIONNAGE
D'ALSACE ET LORRAINE

fusillé par les Allemands en août 1944.

A MES CAMARADES DU LABORATOIRE
DE LA SÉCURITÉ SOCIALE

A Monsieur le Docteur DULONG de ROSNAY

Chef de Clinique a la Faculté

qui nous a inspiré ce travail. La sûreté de son jugement, son esprit critique, l'étendue de son savoir ont fait de lui le guide le plus sûr dans nos recherches.

Mais, il nous plait aussi de dédier cette thèse au camarade qu'il a été, à l'ami qu'il est devenu, dont l'amitié est une des joies les plus profondes de notre vie.

A MES MAITRES DE LA FACULTÉ
ET DES HOPITAUX

A MES JUGES

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE

Monsieur le Professeur DAMADE

Professeur de Clinique des Maladies infectieuses

Médecin des Hôpitaux

Chevalier de la Légion d'Honneur

Croix de Guerre

Officier d'Académie

Médaille d'Argent des Epidémies

qui nous a fait l'honneur de nous confier ce sujet de thèse et d'accepter la présidence de ce jury.

Qu'il nous soit permis, mon cher Maître, de vous exprimer toute notre reconnaissance pour le brillant enseignement que vous prodiguez avec tant d'ardeur et de clairvoyance dans votre service, et pour la bonté et la sollicitude dont vous nous avez entouré.

LES CONTROLES BIOLOGIQUES DANS LES TRAITEMENTS PAR LA STREPTOMYCINE

INTRODUCTION

Lorsque fut créé à Bordeaux le Centre de streptomycine sous la direction de M. le professeur Damade, en mai 1947, on ne connaissait que grossièrement les indications de cet antibiotique, son mode d'administration, sa posologie, la durée des traitements.

Pour obtenir un maximum d'efficacité de cette nouvelle thérapeutique, il convenait d'en préciser, d'une part, les indications par l'étude de la sensibilité des germes à la streptomycine, d'autre part, la posologie, le rythme des injections, son mode d'administration par l'étude de la résorption, de la circulation, de l'élimination, de la diffusion du produit dans les liquides organiques.

Ces recherches qui, au début, apportèrent des indications précieuses s'avérèrent, par la suite, indispensables, car la streptomycine possède une toxicité réelle et elle est capable d'entraîner une accoutumance rapide et marquée.

1° *Etude de la sensibilité des germes.*

Nous rapportons dans ce travail une table de sensibilité moyenne des germes à la streptomycine. Vouloir compter sur une sensibilité standard d'une race microbienne est une

erreur ; parmi les espèces, il existe des groupes primitivement résistants aux doses usuelles ou des groupes qui, secondairement, au cours du traitement acquièrent une résistance à de fortes concentrations, donc inaccessibles aux doses thérapeutiques.

Il est difficile cependant de conclure que cette résistance est la même in vivo qu'in vitro ; on admet généralement avec Keefer (152), que la dose bactériostatique in vivo est quatre fois supérieure à la dose expérimentale.

L'activité in vivo n'est cependant pas toujours parallèle à l'activité in vitro. La thérapeutique streptomycinée n'eut dans certains cas aucune action sur l'évolution d'un processus infectieux dont les germes responsables paraissaient expérimentalement sensibles à cet antibiotique, ce qui nous a conduit à la notion de foyers inaccessibles à l'antibiotique.

Néanmoins, la connaissance du facteur sensibilité du germe est extrêmement utile et commande la thérapeutique dans ses indications et ses doses.

2° *Concentration du milieu.*

Le taux de concentration dans les liquides organiques doit être constamment supérieur à un taux minimum, seuil d'efficacité de l'antibiotique pour l'agent pathogène en cause.

Les doses sous-thérapeutiques favorisent le développement de la résistance secondaire du germe, alors que les fortes concentrations entraînent des accidents toxiques parfois graves.

La connaissance de ce facteur permet donc de maintenir, dans le milieu, des concentrations bactériostatiques et non toxiques en dirigeant les doses et le rythme des injections.

L'observation clinique révèle d'autres facteurs non mesurables par les méthodes biologiques : le comportement individuel de chaque malade, état général, passé pathologique, stade de l'affection, multiplicité des foyers infectieux, lésions associées, foyers inaccessibles à l'antibiotique.

Ces divers facteurs interviennent pour une grande part dans le succès thérapeutique, mais la connaissance des fac-

teurs résistance du germe et concentration du milieu, bases biologiques du traitement, apportera à celui-ci un maximum d'efficacité.

Nous montrerons dans ce travail la contribution biologique à ces problèmes cliniques en étudiant :

les méthodes de dosage de l'antibiotique dans les liquides organiques, méthodes réalisables dans un laboratoire de clinique ;

les concentrations obtenues dans les liquides organiques selon les doses injectées et la voie utilisée ;

les méthodes de dosage de la sensibilité des germes à l'antibiotique, les résultats obtenus : souches sensibles et souches résistantes, tout en faisant remarquer que ces facteurs biologiques n'apportent qu'une solution partielle mais indispensable au problème thérapeutique.

La solution définitive dépend, en outre, de facteurs extrêmement variables : localisations des foyers infectieux, comportement du malade, qui font de cette thérapeutique nouvelle un problème clinique où la biologie apporte une solution partielle mais importante.

L'objectif de ce travail, réalisé au laboratoire de la Sécurité Sociale, est de donner des bases biologiques à la streptomycinothérapie dont la connaissance est susceptible de rendre service aux médecins

qui auront à utiliser la streptomycine,

qui devront en contrôler l'application,

ce qui rentre dans les buts de la Sécurité Sociale qui mène activement la lutte contre les grands fléaux sociaux et en particulier la tuberculose, contre laquelle la streptomycine est une arme efficace.

CHAPITRE PREMIER

METHODES DE DOSAGES DE LA STREPTOMYCINE

Les méthodes de dosage de la streptomycine dans les liquides organiques utilisent soit les propriétés bactériostatiques de la substance pour des germes tests, soit les possibilités de nombreuses réactions mettant en jeu les divers groupements chimiques que présente la molécule ; c'est-à-dire que les méthodes de dosage de la streptomycine sont :

des méthodes biologiques,
des méthodes chimiques.

I. — Les Méthodes Biologiques

1) *Principe :*

Ces méthodes se réfèrent au phénomène de la bactériostase d'un germe sensible à la streptomycine à une concentration donnée.

Cependant, la sensibilité d'un germe est inhérente à une série de facteurs éminemment variables : méthodes de mesure, inoculum, composition et pH du milieu, temps d'étuve que nous étudierons plus loin.

Même lorsqu'on utilise une souche, un milieu et un temps d'étuve identiques, Forster et Woodruff, May, Voureka et

Fleming (108), ont montré qu'il pouvait exister des écarts dans les résultats, allant de 5 à 15 %, en rapport avec de minimes variations dans le pH, la qualité des éléments constitutifs du milieu, les dilutions respectives du milieu de culture et du milieu à titrer et même ce que l'on n'observait pas pour la pénicilline, selon le volume et la densité microbienne de l'inoculum (May, Voureka et Fleming (222), Berkman, Henry et Housewright, Straus (17).) D'un jour à l'autre les écarts peuvent atteindre 25 %.

C'est pourquoi les déterminations ne sont pas valables en valeur absolue, mais seulement par comparaison avec une solution standard de titre connu, dont le potentiel antibiotique est mesuré dans des conditions aussi semblables que possible à celles de la solution à titrer. Hobby, Lenert et Hyman (147), ont insisté sur l'intérêt de ne comparer ainsi que des déterminations effectuées le même jour.

Qu'il s'agisse de titrer la concentration d'une solution ou de déterminer la sensibilité d'un germe, la rigueur des moindres détails de technique est donc essentielle, en particulier le volume et la densité de l'inoculum, le pH du milieu, la température, la durée de l'incubation et le délai de lecture. Henry, Berkman et Housewright (148).

2) *Facteurs influençant la pousse microbienne :*

Plusieurs facteurs peuvent influencer la pousse microbienne :

a) le milieu :

Chacun sait combien la composition du milieu de culture influence la croissance d'un germe.

Nous citerons à ce sujet Donowick et Rake (82) qui, faisant varier la composition du milieu de culture en tryptone et glucose font varier le taux de sensibilité d'un bacille de Friedlander à la streptomycine de 0,03 à 0,10 gamma.

Waksman, Bugie et Schatz (290) constatent que le potentiel antibiotique d'un milieu tombe de moitié par addition de

2 à 6 mg de glucose. La baisse de pH due à la fermentation du glucose par le germe est responsable de la perte d'activité de l'antibiotique.

Geiger, Green et Waksman (119) arrivent aux mêmes conclusions en utilisant l'action d'un bacille Subtilis sur des sucres comme le mannose, le galactose et le lactose. Ils ne constatent pas de chute de potentiel antibiotique du milieu, parce que ces sucres ne sont point hydrolysés ; par contre, de l'action de ce germe sur des sucres fermentescibles, comme le dextrose, le sucrose et le lévulose, résulte une chute notable du potentiel antibiotique du milieu.

Loo et ses collaborateurs (198) montrent la diminution du pouvoir antibiotique de la streptomycine lorsque le milieu est additionné de phosphates ou d'autres sels.

La souche de Shigella, étudiée par Klein et Kimmelman (159), sensible à 2 gamma par cc dans un bouillon ordinaire, devient sensible à 7 gamma par cc lorsqu'ils ajoutent 0,5 % de chlorure de sodium au bouillon. Cet antagonisme des sels alcalins et de la streptomycine est confirmé par Berkman, Henry et Housewright, par Loo et ses collaborateurs, par Waksman et ses collaborateurs (204), par Oswald et Nielsen (238), sans que l'on puisse en élucider la raison.

Les protéines exercent une action dépressive sur le potentiel antibiotique (Henry Berkman et Housewright). Des études précises ont été faites par ces auteurs pour divers constituants protéiniques du sérum :

A. désoxyribonucléique.

A. ribonucléique.

Thymonucléoprotéine, albumines et en particulier globulines et fibrinogène.

Toutes ces protéines diminuent le pouvoir antibiotique d'une solution de streptomycine. L'adjonction de sels alcalins peut en restituer partiellement l'activité, dans certains cas.

Dans le sérum humain, la streptomycine perd 40 % de son activité à 37° durant 24 heures. Dans le plasma, la perte d'activité atteindrait 25 % dans les mêmes conditions.

Cette inactivation est attribuée à l'adsorption de la streptomycine sur les albumines.

Pouvoir inhibiteur du sérum humain et du L.C.R. :

Chandler, Price et Randall (48) l'ont étudié avec beaucoup de soins ; sur 211 sérums examinés, 85, soit 40 %, avaient un pouvoir naturel vis-à-vis du staphylocoque ; ce pouvoir bactériostatique et bactéricide dû aux leucocytes et aux anticorps est particulièrement intense pour Kl. pneumoniae (pneumobacille), B. subtilis, certaines souches de coli et de B. megatherium.

Maral et Blandin (203), ont insisté sur ce fait. Il est donc important de préciser ce facteur dans un titrage. Dans la pratique, cependant, ce pouvoir inhibiteur du sérum n'est pas stable ; il s'éteint complètement après 18 à 24 heures de conservation au frigidaire et n'intervient que dans une mesure négligeable ; il s'éteint également par un chauffage d'une heure à 50°.

Antagonismes chimiques : les dérivés soufrés comme la cystéine, l'A. thioglycollique, les subtances oxydantes comme le périodate de sodium, des réactifs aldeho-cétoniques : phénylhydrazine, la semi-carbazine ou l'hydroxylamine inactivent la streptomycine.

La cystéine : Denkelwater, Cook et Tishler (79), Geiger, Green et Waksman (119), Reilly, Schatz et Waksman (252), Waksman et Schatz (293) ont montré le pouvoir inhibiteur de la cystéine à l'égard de la streptomycine en mettant en présence durant plusieurs heures ces deux substances.

Le mécanisme de cette action inhibitrice est mal connu, il paraît lié au rôle de l'antibiotique dans le métabolisme du groupement thiol dont il interdirait l'utilisation par le germe en bloquant une fonction enzymatique ou en le confisquant à son profit.

Les corps cétoniques : les corps cétoniques réagissent sur le radical carbonyl de la molécule de streptomycine dont la

fonction antibiotique se trouve bloquée. Brink, Kuehl (31), Peck et coll. (242).

L'urée : Fitzgerald et Bernheim (107) ont constaté le pouvoir neutralisant de l'urée. Lorsqu'on remplace dans le milieu de Dubos l'asparagine par l'urée, l'antibiotique perd toute action antagoniste sur le B. K. Ce fait est à rapprocher de la neutralisation possible de la streptomycine par les bases puriques ou pyrimidiques qui, en se dégradant, peuvent libérer de l'urée.

Antistreptomycine microbienne : les cultures de staphylocoque aureus, proteus vulgaris, élaboreraient un ferment antagoniste de la streptomycine. Henry, Berkman, Housewright (141).

b) le pH du milieu :

Le pH du milieu influe considérablement sur l'action biostatique de la streptomycine. Déjà Waksman, Bugie et Schatz (290) avaient montré que l'effet maximum de la streptomycine s'obtenait pour un pH voisin de 9 et diminuait ensuite au fur et à mesure que le pH devenait acide ; à pH neutre, on estime que le bactériostatisme perd 1/4 de son activité, à pH 5, il en perd les 5/6.

Murray et Findland (236) assurent que, à pH 5,8, la streptomycine perd in vitro la quasi totalité de son activité bactériostatique.

Abraham et Dutie (2) observent, de pH 6 à pH 8, des variations dans la sensibilité allant de 5 à 1 gamma par cc pour un streptocoque et de 250 à 100 gamma par cc pour un bacille pyocyanique.

En restituant le pH initial par addition d'un tampon phosphaté, la totalité du potentiel antibiotique est recouvrée, Wolinsky et Steenken (295), Geiger, Green et Waksman (119). Il s'agirait non d'une destruction mais d'un blocage de la streptomycine.

c) L'inoculum :

La concentration bactériostatique nécessaire à l'inhibition est d'autant plus élevée que l'inoculum est important.

Ce fait a été mis en évidence par BERKMAN, HENRY et HOUSEWRIGHT (17), sur des souches de staphylocoque aureus, proteus vulgaris, E. Coli et S. dysenteriae. Ces auteurs supposent qu'il y aurait adsorption de la streptomycine sur les corps microbiens, combinaison possible avec les a. nucléiniques et appauvrissement de la concentration réelle en antibiotique du milieu. Cependant, les titrages effectués ne révèlent pas de fléchissement du taux de concentration en streptomycine, ce qui exclut définitivement cette hypothèse.

La densité microbienne, semble-t-il, agirait non point quantitativement mais qualitativement.

La population microbienne d'une culture n'est point homogène sous le rapport de sa résistance à la streptomycine. A côté des souches sensibles existent des souches résistantes qui finissent par se développer d'autant plus vite qu'elles sont inoculées plus largement. On conçoit dès lors l'importance du facteur densité microbienne dans l'action antibiotique d'une concentration donnée de streptomycine, (MAY, VOUREKA et FLEMING (222).

En conclusion, trois facteurs sont susceptibles, au cours des dosages, d'influencer la pousse microbienne :

la composition du milieu utilisé,
le pH du milieu,
l'inoculum.

Il importe donc d'utiliser un milieu de composition rigoureusement fixe dans ses constituants, dans leurs proportions, dont le pH fixe est soigneusement ajusté.

3) *Choix du germe test :*

Le germe test répondra aux conditions suivantes :

fixité de la souche,
homogénéité de la culture.

On choisira, en outre, un germe faiblement inhibé par le sérum humain, facile à manier, peu virulent.

Les germes utilisés varient suivant les auteurs.

Le staphylocoque doré (souche N.R.L.L. n° 313), dit staphylocoque Londres ou staphylocoque Oxford, a été choisi par Stebbins et Robinson (279), Schatz et Waksman (261), Sureau et Chabbert (282).

Le lactobacillus bulgaricus isolé du yogourth est utilisé par Sanchez et Lamensans (259) ; Maral et Blandin (202-203).

La souche de Klebsiaella pneumoniæ cultivée sur un bouillon de coeur de boeuf est utilisée par Donovick et ses collaborateurs (81), par May, Voureka et Fleming (222), pour leurs dosages, en dilutions à 10-6.

Linz et Mutsaars (196) utilisent le bacille pyocyanique, tandis que Price, Nielsen et Welch (245) préfèrent le *Bacillus Circulans.*

Prevot, avec *Cl. BUTYRICUM* (243), conseille une méthode rapide au *vert janus.*

Rammelkamp (249) utilise dans des dilutions de sang un *streptocoque hémolytique.*

Heilman et Cray (137), de la Mayo Clinic, ont choisi le *Bacillus megatherium.*

Dans les méthodes par diffusion, Stebbins et Robinson (279) emploient le *st. aureus,* souche Londres, tandis que Waksman et ses collaborateurs (294), Sherwood et ses collaborateurs (268) ont choisi une souche de *B. subtilis* sensible à la streptomycine.

4) *Solvant pour les dilutions :*

Nous utilisons le sérum physiologique pour diluer la streptomycine ou les produits biologiques susceptibles d'en contenir ; ces derniers sont conservés 24 heures à 0° afin qu'ils perdent leur pouvoir inhibiteur vis-à-vis de la souche.

5) *Les méthodes :*

Il existe deux procédés bien distincts d'où découlent diverses méthodes :

la méthode de dilutions sériées,

la méthode de diffusion.

Le principe de la méthode des dilutions progressives consiste à inhiber dans un bouillon de culture, par des dilutions croissantes et connues de streptomycine, la pousse d'un germe test, dont la résistance à l'antibiotique est connue. La dilution limite, « end point » au-dessus de laquelle la croissance de la culture témoin n'est plus suspendue, indique la concentration du milieu en antibiotique.

Le principe de la méthode de diffusion consiste à inhiber, en milieu solide, la croissance d'un germe test par des solutions de titres divers de streptomycine. Les surfaces d'inhibition qui se produisent autour des sources de l'antibiotique mesurent l'intensité de l'activité bactériostatique du produit.

A. — Méthodes de dilutions

Les méthodes de titrage par dilution de la streptomycine sont analogues aux méthodes de titrage de la pénicilline préconisées par Fleming en 1929 et perfectionnées en 1942 par Rammelkamp (251).

On note, après incubation, la dilution exerçant une action inhibitrice sur la culture témoin.

On effectue parallèlement l'épreuve sur le liquide à titrer et sur une solution de titre connu, de façon à déterminer la dilution limite qui inhibe la souche utilisée.

On conçoit aisément que ces manoeuvres doivent être effectuées dans l'asepsie la plus rigoureuse.

Diverses techniques basées sur ce principe ont été employées.

a) TECHNIQUE de Donovick, Hamre, Kanavagh et Rake (81) utilisant le bacille de Friedlander (Klebsiella pneumoniæ souche n° 41) cultivé sur bouillon de coeur de boeuf.

Ces cultures sont diluées à 10-6 dans du bouillon tryptone à 1 % stérile, à pH ajusté à 7,5 à l'aide d'une solution normale de soude. Le bouillon ensemencé est alors réparti dans deux séries de douze tubes à hémolyse par fraction de 2 cc :

une série pour le milieu à titrer,
une série pour l'étalon.

Les dilutions de l'étalon sont effectuées à partir d'une solution mère de streptomycine dosée à 1 gamma par cc et conservée à la glacière.

Le milieu à titrer est dilué à 1/40, 1/200 suivant les quantités de streptomycine qu'il est présumé renfermer.

Les diverses dilutions du standard et de l'échantillon sont introduites chacune dans un tube à hémolyse à volume égal à celui de l'inoculum. Puis 2 cc de chacun de ces tubes sont portés dans deux autres tubes, on agite ; 2 cc de ces nouveaux tubes sont portés respectivement dans une troisième paire de tubes et ainsi de suite. On obtient des dilutions à 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, etc., pour le standard et le milieu à titrer.

On porte à l'étuve à 37° durant 15 à 18 heures. A la sortie de l'étuve on agite les tubes et on détermine dans la série étalon et la série de l'échantillon le tube le plus dilué qui reste absolument limpide, où l'inhibition se manifeste.

La marge d'erreur serait d'environ 10 %, mais dans les liquides organiques (sang, urine) les caractères biochimiques du liquide fausseraient les résultats dans une proportion de 40 pour cent.

Alture-Werber et Loewe (7) utilisent la même méthode, mais avec un milieu plus pauvre à la « neo peptone » à 0,50 ou 0,25 %, qui augmenterait la sensibilité du bacille de Friedlander à la streptomycine.

Price, Nielsen et Welch (245) adoptent comme germe d'épreuve le bacille circulans.

Des artifices de lecture : indicateur coloré, milieu hémolytique, des micro-techniques : slides cells, tubes capillaires, sont à l'origine d'autant de variantes.

b) méthode à la phtaleine du phénol : May, Voureka et Fleming (222), Sureau et Chabbert (281-282-283)

Cette méthode consiste à ensemencer une série de tubes de culture contenant des doses croissantes d'antibiotique avec un germe dont on cherche à inhiber la pousse.

Pour rendre le dosage plus facilement lisible, on ajoute à chaque tube quelques gouttes de sucre et une goutte d'un indicateur de pH ; si le germe, le staphylocoque par exemple, se développe, le sucre est fermenté, le pH modifié et l'indicateur vire.

L'emploi de la P.S.P. facilite en outre la lecture dans les cas de titrages sur sangs hémolysés.

TECHNIQUE :

A. — *Préparation du bouillon peptoné glucosé :*

Le bouillon peptoné utilisé est amené à un pH alcalin rigoureusement fixe : 7,5.

Le bouillon à pH 7,5 en tubes de 10 cc est ensemencé d'une dilution à 2 % dans un sérum physiologique stérile, d'une culture de 24 heures en eau peptonée neutre de staphylocoque Londres :

— IV gouttes de la dilution de staphylocoque Londres en bouillon neutre dans 10 cc de bouillon alcalin.

On ajoute alors à ce bouillon alcalin ensemencé et dans l'ordre :

— XV gouttes d'une solution de P.S.P. à 1,5 pour 1000 ;

— XXX gouttes d'une solution de glucose à 30 %.

La solution P. S. P. de densité inférieure à celle du bouillon reste en surface, mais l'addition de la solution de glucose plus dense entraîne la chute de la première et le milieu se teinte uniformément en rouge.

En résumé :

— IV gouttes de la solution à 2 % de staphylocoque Londres ;

— XV gouttes de la solution à 1,5 pour 1000 de P.S.P. ;

— XXX gouttes de la solution à 30 % de glucose ;

— 10 cc de bouillon à pH 7,5.

Normalement, la pousse du staphylocoque entraîne une fermentation du glucose avec acidification du milieu et abaissement du pH.

La P. S. P. donne une coloration rouge au milieu dont le pH initial est à 7,5. La pousse microbienne entraîne l'acidification du milieu et le pH tombe à 5,5. La P.S.P. vire alors au jaune franc.

On trouve souvent, à la lecture du dosage, entre les tubes virés au jaune, dans lesquels la streptomycine n'a point inhibé la pousse microbienne et les tubes demeurés rouges, des tubes de coloration orange. Le pH de ces tubes n'est pas suffisamment abaissé pour que la P. S. P. vire au jaune franc ; néanmoins, le germe a poussé ; en prolongeant le séjour à l'étuve, ces tubes finissent par devenir jaunes.

Le virage des tubes au jaune témoigne de la croissance du germe.

Conservation de la souche de staphylocoque

La souche de staphylocoque Londres est conservée sur gélose peptonée glucosée et repiquée toutes les semaines à la température du laboratoire.

La souche est ensemencée chaque jour dans une eau peptonée neutre (10 cc) placée 24 heures à l'étuve à 37° ; les dilutions du germe sont faites à partir de cette culture en milieu liquide.

B. — *Préparation des dilutions de sérum, plasma, ou L.C.R. renfermant l'antibiotique :*

Le liquide organique à titrer : sérum, plasma ou L. C. R. est préparé dans des tubes à hémolyse, vingt tubes, selon des

concentrations croissantes. La dilution est faite en eau physiologique.

N° des tubes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Eau physiologique en gouttes	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Liquide à titrer en gouttes	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1
Milieu P.S.P. en gouttes.	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
Titre final	1/2	9/20	2/5	7/20	3/10	1/4	1/5	3/20	1/10	1/20

Pour obtenir des concentrations moindres, mais dans la continuité de la gamme précédente, on fait une dilution au 1/16 du liquide organique et, par le même procédé, on obtient une concentration à 1/32, 1/40.

N° des tubes	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Eau physiologique en gouttes ..	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Liquide à titrer dilué au 1/16 en gouttes	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1
Solution glucosée P.S.P. en gouttes	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
Titre final	1/32	9/320	1/40	7/320	3/160	1/64	1/80	3/320	1/160	1/320

Ces chiffres, empruntés à CHABBERT, ne sont donnés qu'à titre d'exemple. En réalité, on peut faire varier le titre de la dilution pour obtenir une échelle plus ou moins grande. Néanmoins, celle-ci est suffisante pour l'application clinique journalière.

GAMME TÉMOIN : Le comportement du staphylocoque Londres vis-à-vis de la streptomycine est très constant ; d'ailleurs, les calculs tenant compte d'une gamme étalon, de légères va-

riations, sont sans importance. Néanmoins, il y a intérêt à limiter au maximum ces variations en conservant cette souche sur gélose et en la repiquant tous les 10 jours.

Le staphylocoque Londres est résistant à une concentration de 0,44 unité de streptomycine par cc. On prépare donc une gamme étalon de 1,25 unité par cc. en 10 tubes. La gamme étalon répond au tableau ci-dessous :

N° des tubes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Eau physiologique en gouttes	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Dilution de sterptomycine en gouttes	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1
Milieu P.S.P. en gouttes	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
Titre final	5/4	9/8	1	7/8	3/4	5/8	1/2	3/8	1/4	1/8
Taux en gamma	1,25	1,12	1	0,87	0,75	0,62	0,50	0,37	0,25	0,12

Le virage s'effectue en général à partir du 8e tube.

Lecture des résultats :

Pour calculer la teneur en streptomycine du milieu à titrer, on multiplie la première dilution virée de l'étalon par l'inverse de la première dilution virée du liquide à titrer ; puis la dernière dilution non virée de l'étalon par l'inverse de la dernière dilution non virée du milieu à titrer ; on prend la moyenne entre les deux chiffres obtenus.

La lecture se fait après 24 heures d'étuve à 37°. Elle est facilitée par le virage au jaune de la P. S. P. La méthode est sensible à 0,44 unité par cc.

Le titrage peut se faire sur le sérum, le plasma, le L. C. R. ou généralement sur tous les milieux stériles; on peut, éventuellement, l'appliquer aux urines ou à n'importe quel exsudat, à condition de stériliser préalablement ces milieux par passage sur filtre Seitz.

c) Méthode de Sanchez et Lammensans (259)

Les auteurs utilisent le lacto-bacillus bulgaricus isolé du Yogourt, cultivé à 45° sur du lait de vache écrémé, dilué et stérilisé. Un indicateur coloré sert à évaluer les variations de pH, témoin de la libération d'acide lactique lors de la croissance de la souche.

Il existe deux variétés de méthode :

Méthode ordinaire : pour les concentrations de l'ordre de 1 gamma de streptomycine.

Le milieu, dans ce cas, est constitué par du lait de vache écrémé par centrifugation, dilué à 25 % dans de l'eau distillée.

Au moment de l'emploi, on ensemence 1,5 cc. de culture pour 100 cc. de milieu.

Micro-méthode : détecte 0,1 gamma de streptomycine et peut servir aux dosages cliniques de produits dont la concentration est au-dessous de 1 gamma par cc.

Le milieu utilisé dans ce cas est constitué par du lait de vache écrémé, non dilué.

On ensemence au moment de l'emploi à raison de 1,5 cc. de culture pour 100 cc. de lait.

On introduit alors dans chaque tube une quantité égale de milieu et des dilutions de concentration croissante du milieu à titrer, ou de streptomycine pour l'étalon.

Dans la méthode ordinaire, les auteurs conseillent l'emploi d'une dilution à 1/10 de la solution étalon ou de la solution à tester dans le milieu ensemencé, c'est-à-dire 9 cc. de milieu pour 1 cc. de la dilution de solution à tester.

Dans la micro-méthode, les auteurs utilisent cette dilution au titre de 1/2 avec 0,5 cc. de milieu et 0,5 cc. de la dilution du produit à tester.

Soulignons que ce dosage peut être fait en gouttes tout comme dans la méthode de Sureau et Chabbert.

Les tubes sont placés à l'étuve à 37°. La lecture a lieu lorsque les tubes témoins sont coagulés.

Dans les cas douteux, les auteurs conseillent d'introduire 2 gouttes de l'indicateur ci-dessous :

Rouge de méthyle à 0,1 % dans l'alcool absolu .. 100 cc.
Bleu de méthylène à 4 % dans l'eau distillée .... 4 cc.

Dans ces conditions, on obtient les colorations suivantes :

pas de développement microbien ..... verte
début de la pousse microbienne ..... grise
développement microbien ..... rouge, rose
avec ou sans coagulation.

Le calcul se fait comme dans les cas précédents.

Le premier tube non coagulé de la gamme étalon contient en général 0,5 gamma par cc. de streptomycine.

Le dosage peut être fait sans précautions d'asepsie, les germes poussant en 2 h. 30.

La lecture est faite 2 h. 30 après incubation à 45°. Cette méthode permettrait de déceler 2 gamma de streptomycine.

M. R. Maral et M^me^ Blandin (203) ont mis au point une micro-méthode en tubes capillaires en vue du dosage de la streptomycine chez les animaux de laboratoire. La coagulation du lait témoigne de l'activité du bacille Bulgare.

d) Méthode au vert janus : Prévot (243)

Cette méthode permet à son auteur de déterminer en deux heures des taux de 3 gamma de streptomycine avec Clost. Butyricum.

e) Slide cell - micro-méthod

Cette méthode présente l'avantage de faire des dosages fréquents sans grosses soustractions de liquide, dans les humeurs des malades traités.

Créée par Wright en 1933, elle a été appliquée en 1943 par Fleming au dosage de la pénicilline, puis par Heilman en 1945 au dosage de la streptomycine, et enfin perfectionnée par Sureau et Chabbert (282).

TECHNIQUE :

Sur une lame porte-objet stérilisée préablablement à la flamme et refroidie, on dépose des lames de papier stériles,

trempées dans la paraffine chaude et égouttées. Ces lames de papier ont 2/10e de millimètre d'épaisseur environ, 25 mm. de long et 2,5 mm. de large.

On en dispose une à chaque extrémité et cinq intercalaires, délimitant ainsi 6 compartiments égaux ayant une contenance d'environ 50 mm 3.

Une seconde lame flambée au bec bunsen est appliquée sur la première.

On effectue des dilutions du sérum à titrer, soit dans des tubes à hémolyse en diluant le liquide à examiner avec le sérum physiologique et en ajoutant le streptocoque hémolytique et les globules rouges (procédé de Heilman), soit en utilisant une micro-pipette (procédé de Fleming).

Avec cette micro-pipette, on dépose dans les six cases de la lame 25 mm 3 de sérum physiologique, puis dans la première 25 mm 3 du sérum du malade. On en reporte 25 mm 3 dans la deuxième et ainsi de suite. On ajoute alors 25 mm 3 de milieu infecté avec le germe-test.

Heilman (35) préconise un milieu hémolytique et utilise le bacille Megatherium, qui a l'avantage de pousser sur un milieu au sang, de posséder un haut pouvoir hémolytique et d'être insensible à la pénicilline et aux sulfamides.

TECHNIQUE de Sureau et Chabbert :

Afin d'éviter le lutage terminal du bord des slides cells, Sureau et Chabbert ont imaginé une technique qui consiste à placer sur la lame porte-objet des cellules rectangulaires découpées dans une tranche mince de buvard, vaselinées et stérilisées.

Ces mêmes auteurs préconisent le milieu sérum humain-glucose-phénolphtaléine comme pour le dosage dans les tubes:

Sérum humain inactivé	5 cc.
Glucose à 40 %	X gouttes
P. S. P. à 0,15 %	2 gouttes

Ce milieu est ensemencé d'une dilution à 1 % de culture de staphylocoque doré de 24 heures.

Ces cultures sont portées à l'étuve durant 18 à 24 heures aux termes desquelles ont peut lire les résultats.

Ces méthodes présentent des inconvénients analogues à ceux des méthodes des tubes fermés. La pousse microbienne s'effectue en milieu privé d'air. May, Voureka et Fleming (222) ont montré que les chiffres obtenus en tubes ouverts et en tubes fermés présentaient des écarts dont il faut tenir compte pour l'appréciation des résultats.

LECTURE DES RESULTATS :

Avec B. Megatherium, quand le taux d'antibiotique dans le sérum est suffisant, le sang n'est pas hémolysé, mais quand le taux est inférieur, les streptocoques se développent et hémolysent le sang.

Avec staph, aureus, si le taux d'antibiotique dans le sérum est insuffisant, le germe pousse, fermente le glucose, l'acidification du milieu entraîne le virage du rouge au jaune de la P. S. P.

Le calcul du taux antibiotique se fait comme pour la méthode de dilution en tubes en multipliant la concentration trouvée dans la dilution standard par l'inverse de la dilution du liquide à titrer : on obtient ainsi la concentration de ce dernier.

Avec B. Megatherium, le taux limite est de 3,12 unités par cc3, parfois 1,56. Avec S. Aureus 3 unités par cc, parfois moins.

MICRO-METHODE DES TUBES CAPILLAIRES :

La culture est effectuée dans des tubes capillaires ouverts à leurs deux extrémités. On y cultive Kl. Pneumoniae ou staph. aureus sur un milieu pauvre : glucose, peptone, naphtaline, additionné d'une dilution de volume égal du milieu à titrer. On fait une gamme standard, la lecture du résultat est analogue à celle décrite précédemment.

Les micro-méthodes sont des méthodes d'orientation qui peuvent être substituées aux méthodes précédemment décrites pour les dosages cliniques.

PRECISION DES METHODES DE DILUTION :

La précision des méthodes de dilution est fonction de l'écart qui sépare deux dilutions successives. Cependant, lorsqu'on désire une précision plus poussée, on peut avoir recours à des dilutions intermédiaires.

B. — Méthodes par diffusion

Nous en rappelons brièvement le principe : il consiste à mesurer l'intensité de l'activité bactériostatique d'un milieu en comparant les zones d'inhibition d'un germe test provoquées par des dilutions connues d'antibiotique à celles provoquées par l'échantillon à titrer. Ceci d'après la propriété générale des antibiotiques en solution de diffuser à l'intérieur de la gélose selon une progression géométrique décroissante.

Les nombreuses différences de technique rencontrées proviennent soit de la nature de la souche témoin employée : staph. aureus, Stebbins et Robinson (279), bacille subtilis, Waksman et collaborateurs (292), Forster et Woodruff (109), Denkelwater et collaborateurs (79), Sherwood (268), soit du mode d'introduction de l'antibiotique à la surface de la gélose : cyclindres, disques de papier-filtre, cups en gélose, rondelles de coton, tubes de gélose solidifiée.

a) Méthode des cylindres :

La méthode des cylindres Heatley (131), employée pour le dosage de la pénicilline, a été étendue à celui de la streptomycine. L'ensemencement se fait soit avec des spores de bacille subtilis Forster et Woodruff (109), méthode utilisée par Maral pour le dosage de l'antibiotique dans l'urine, soit avec le staphylocoque, Stebbins et Robinson (279), le staphylocoque étant moins sensible aux effets bactério-statiques du sérum humain que le bacille subtilis.

On utilise de petits tubes en verre de 1 cm. de diamètre, dont les extrémités sont rodées et que l'on implante à la surface d'une couche de gélose solidifiée dans une boîte de Pétri, séchée durant une heure à l'étuve.

On verse dans chaque tube des quantités égales de streptomycine de concentrations différentes et le produit humoral à doser.

La boîte de Pétri est incubée à 37° durant vingt heures. La streptomycine diffuse progressivement, le degré de la diffusion étant en rapport avec la concentration en principe actif de la solution. La comparaison est faite avec une solution test d'antibiotique.

Cette méthode, dans les mains de Stebbins et Robinson, a permis les titrages dans les humeurs, sérum, urine, liquide céphalo-rachidien.

b) Méthode des disques de papier filtre :

La méthode des disques de papier-filtre, employée par Vincent (288) pour le dosage de la pénicilline, s'applique également à celui de la streptomycine : Loo, Skell et collaborateurs (198), Waksman et Schatz (294).

20 cc. de gélose, préalablement fondue, sont versés dans des boîtes de Pétri, puis séchés et inoculés par un germe test.

On imbibe de solutions diverses d'antibiotique des disques de papier filtre stériles de 7,5 mm. de diamètre, ou des carrés ou rectangles de papier filtre.

Les carrés ou disques de papier sont appliqués à l'aide d'une fine pince à la surface de la gélose ainsi ensemencée.

On place les boîtes de Pétri à l'étuve à 37° et on fait la lecture après vingt heures.

La précision de la méthode serait de 8,5 % si l'on utilise huit disques pour une même dilution.

c) Méthode des cups en gélose :

La méthode des cups en gélose fut primitivement utilisée pour le dosage de la pénicilline dans les humeurs par L. P. Garrod (116), et fut appliquée au dosage de la streptomycine par Schatz et Waksman (261).

20 cc. de gélose, préalablement fondue, sont versés dans des boîtes de Pétri, séchés et inoculés par un germe test.

On perfore la gélose en 5 endroits équidistants, à l'aide de l'extrémité d'un tube à hémolyse de 1 cm. de diamètre. FLEMING recommandait de sceller le fond des cups avec une goutte de gélose, afin d'empêcher l'infiltration de l'antibiotique entre la gélose et le fond de la boîte de Petri. Chaque cup reçoit une dilution différente de streptomycine (2 dixièmes de cc.), la même quantité du liquide organique à titrer est déposée dans l'une des cups.

Les boîtes de Pétri sont mises à l'étuve à 37° durant 20 heures environ.

REMARQUE : Comme nous venons de le voir, ces méthodes, basées sur le même principe, ne diffèrent que par la manière dont l'antibiotique est introduit dans le milieu de croissance du germe.

Ensemencement du milieu :

Le milieu nutritif peut être ensemencé de diverses façons. La manière la plus rationnelle consiste à contaminer la gélose encore liquide à l'aide d'une dilution des germes test avant le coulage dans les boîtes.

Un deuxième procédé consiste à couler un voile de gélose ensemencé du germe test à la surface du milieu solide.

Enfin, une dilution du germe test en sérum physiologique peut être déposée à la surface de la boîte, puis réaspirée après contamination du milieu.

Eau de condensation :

Pour éviter les perturbations à la surface de la gélose par l'eau de condensation du milieu, lors du séjour à l'étuve, il est prudent d'interposer, entre le couvercle et la boîte, une rondelle de papier-filtre.

Croissance du germe - résultats :

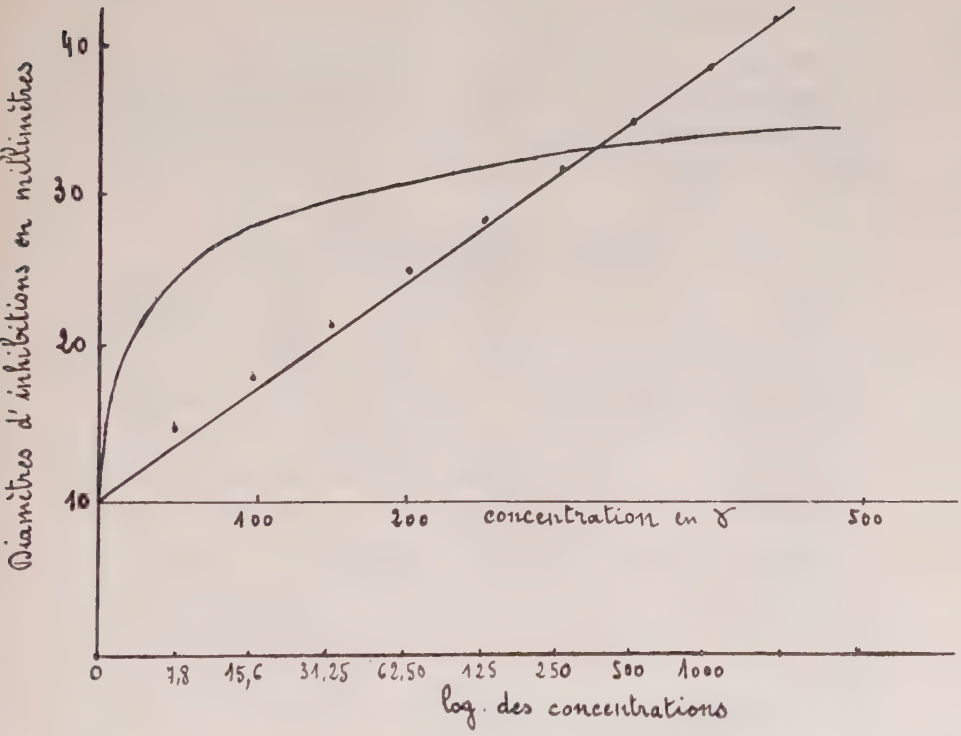
On place les boîtes de Pétri à 37° et on fait la lecture après 20 heures. Il apparaît autour de chaque rondelle de papier, cup ou cylindre, un disque clair, transparent, stérile zone d'inhibition, contrastant avec le reste de la gélose, qui est

opaque. A l'intérieur des disques clairs, la streptomycine, diffusant à travers la gélose, a inhibé la croissance du germe test qui, par contre, a poussé dans les zones opaques.

Principe : Le principe de ces méthodes repose sur la propriété des antibiotiques de diffuser à l'intérieur de la gélose selon une progression géométrique décroissante.

Nous avons vérifié cette loi en établissant une courbe exprimant les diamètres d'inhibition en fonction des concentrations dans les cups. Cette courbe a un tracé parabolique ; la courbe obtenue en fonction de leurs logarithmes a un tracé linéaire.

Cependant, les variations continuelles dans les résultats, dues aux conditions d'expériences, obligeraient à recommencer chaque jour une courbe standard. En pratique, il suffit de comparer la zone d'inhibition du produit à doser et celle obtenue dans les mêmes conditions par une streptomycine étalon.



Calcul de la concentration de la streptomycine dans les cups en fonction des surfaces d'inhibition :

si C désigne la concentration de la streptomycine étalon,

Dc — le diamètre d'inhibition correspondant,

X — la concentration de l'échantillon à doser,

Dx — le diamètre d'inhibition correspondant,

on a :

$$\frac{\log C}{\log X} = \frac{Dc}{Dx} \qquad \log X = \log C \frac{Dc}{Dx}$$

(Dc et Dx étant connus)

Si on choisit C = 100, log C = 2

$$\text{d'où : } X = 2 \frac{Dc}{Dx}$$

Précision de la méthode :

Cette technique nécessite peu de manipulations ; elle est relativement précise, mais exige des conditions d'expérimentation strictement identiques. Dans les meilleures conditions, HEATLY calcule que le coefficient d'erreur atteint 17,6 %.

II. — LES MÉTHODES CHIMIQUES (1)

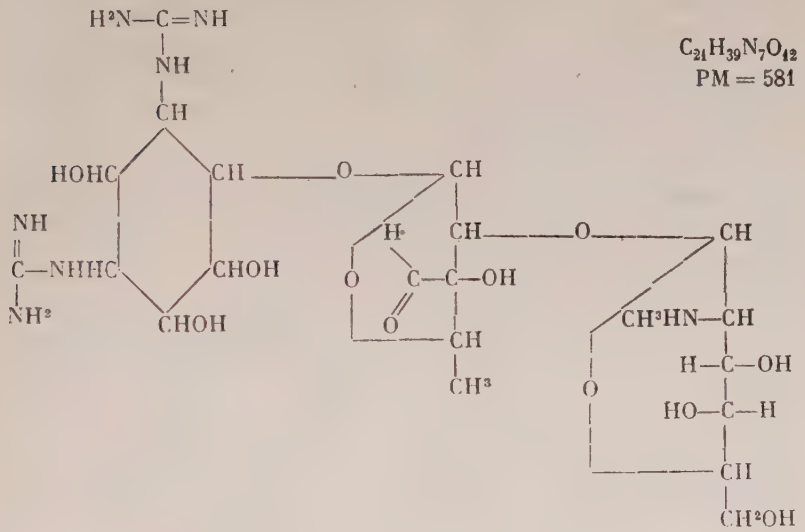
Dès que fut élucidée la constitution chimique de la streptomycine, de nombreuses méthodes chimiques furent élaborées en vue d'identifier ou de doser cet antibiotique. La formule de la streptomycine, que nous reproduisons ci-dessous, laisse en effet entrevoir la possibilité de nombreuses réactions mettant en jeu les divers groupements chimiques que présente la molécule.

Rappelons brièvement, afin d'éclairer ce qui va suivre, que la streptomycine résulte de l'union de la streptidine, base aminée dérivant de l'inositol, avec la streptobiosamine, elle-

(1) Nous remercions le professeur MASQUELIER, qui nous a conseillé dans l'élaboration de ce chapitre.

même constituée par la liaison oxydique d'une molécule de streptose avec une molécule de N-méthyl B glucosamine gauche. Chacun de ces composés, présentant des possibilités réactionnelles intéressantes, a pu servir à mettre sur pied des méthodes de dosage chimique de l'antibiotique que nous allons maintenant passer en revue.

Formule de la Streptomycine



I. — *Méthodes basées sur les réactions propres au noyau de la streptidine*

La streptidine présente deux sortes de groupements chimiques particulièrement intéressants : tout d'abord, ceux du noyau de l'inositol, ou cyclohexanehexol, support de la molécule ; ensuite, les deux chaînes latérales de la guanidine. A notre connaissance, peu de tentatives ont été entreprises en vue de doser la streptomycine, en mettant à profit ces divers groupements. Nous nous bornerons à donner ici quelques indications sur les recherches effectuées en ce domaine au laboratoire de contrôle de la S. S. (211).

1°) Par oxydation nitrique, nous avons pu obtenir la transformation du noyau de l'inositol en acide rhodizonique. Il suffit d'évaporer à sec, dans une capsule, quelques gouttes d'une solution de streptomycine et de traiter le résidu par l'acide azotique à chaud. Les sels alcalino-terreux de l'acide rhodizonique qui se forment dans ces conditions sont vivement colorés. Cette réaction n'est que qualitative, et peut tout au plus servir à la recherche de la streptomycine en l'absence d'inositol libre ou combiné.

2°) On sait depuis longtemps que la streptomycine donne la réaction de Sakaguchi, fait que l'on utilise dans l'industrie pour apprécier la richesse des jus d'extraction en antibiotique. Cette réaction dépend de la présence, dans le noyau de la streptidine, des deux groupes guanidiques monosubstitués que l'on dose.

Différents essais, pratiqués par Masquelier et ses collaborateurs, ont précisé la sensibilité de la réaction et les différents facteurs qui conditionnent l'intensité de la coloration. De ces essais, qui avaient pour but d'instaurer une méthode de dosage dans l'urine, il faut retenir que la réaction de Sakaguchi ne présente pas une fidélité assez grande pour l'utiliser à un dosage. De plus, l'arginine urinaire, ainsi que l'urée, interfèrent dans la réaction, de telle sorte qu'on ne peut espérer doser la streptomycine qu'après extraction par absorption chromatographique.

3°) Schenck et Spielman (264) ont montré que l'hydrolyse de la streptomycine, en milieu alcalin, fournit du Maltol, méthyl-2 hydroxy-3 - pyrone. En pratique, on porte la streptomycine pendant 3 minutes au bain-marie bouillant, en présence de NaOH normale. Le maltol donne des colorations variées avec un certain nombre de réactifs (chlorure ferrique, réactif de Folin). Les impuretés phénoliques gênent évidemment la réaction, ce qui a conduit Masquelier (212) à extraire le maltol formé au moyen de chloroforme. Par évaporation du chloroforme, on obtient un résidu sur lequel il devient possible de faire agir le sel de diazonium de la paranitraniline.

On obtient ainsi une coloration vert foncé, dont la limite de sensibilité se situe aux environs de 15 gamma.

Schenck et Spielman (278) ont mis au point une technique spectrophotométrique de dosage du maltol, basée sur le fait que ce composé présente une forte absorption dans l'ultra-violet à 2740 Angstroëm et une autre à 3170 Angstroëm. Des essais pratiqués au laboratoire de Physique de la Faculté de Médecine, grâce à la bienveillance du professeur Blanquet, ont permis de vérifier l'exactitude des zones d'absorption, mais cette méthode ne permet pas de doser des quantités de streptomycine inférieures à 100 gamma.

En résumé, le noyau de la streptidine fournit au chimiste de nombreuses possibilités de dosages. Mais si l'on se place au point de vue du clinicien, aucun de ces dosages n'est réellement pratique et ne peut être effectué à l'aide de techniques simples. Tout au plus peut-on en tirer des procédés d'identification de l'antibiotique.

II. — *Méthodes basées sur les réactions propres au noyau de la streptobiosamine*

Nous les diviserons en deux groupes, suivant qu'elles mettent en jeu le streptose ou la méthylglucosamine.

A. — REACTIONS DUES AU STREPTOSE

Elles utilisent en général des réactifs précipitants tels que les hydrazines substituées ou la semi-carbazide.

1) Méthode colorimétrique de Marshall (206) :

Elle consiste à faire agir sur la fonction réductrice du streptose une semi-carbazide susbtituée, dissoute dans l'éther monométhylique du glycol. On obtient une semi-carbazone que l'on prive de l'excès de réactif par lavage au chloroforme et sur laquelle on fait agir l'acide chlorhydrique pur. Il apparaît une coloration bleue qui sert au dosage.

2) Méthode de Boxer et Jelineck (26) (27) :

Se montre beaucoup plus sensible que la précédente, mais fait appel à des techniques bien trop compliquées pour l'usage clinique courant. Le réactif est une hydrazine substituée, la

9-hydrazinoacritine, que l'on obtient sous forme de chlorhydrate en faisant bouillir à reflux le 9-chloroacritine et l'hydrate d'hydrazine dissous dans l'éthanol. Ce réactif permet de préparer une hydrazone de la streptomycine. On élimine l'excès de réactif par lavages au moyen d'alcool benzylique et de tétrachlorure de carbone.

L'hydrazone est dosée par fluorométrie. Cette méthode serait sensible à 1 gamma de streptomycine.

B. — REACTIONS DUES A LA N-METHYLGLUCOSAMINE

Scudi et ses collaborateurs (265) ont eu l'idée d'appliquer à la streptomycine la réaction d'Elson-Morgan, qui sert à doser la glucosamine. En modifiant légèrement la technique originale, ces auteurs sont parvenus à doser la streptomycine grâce à la méthylglucosamine qu'elle renferme.

La réaction consiste à faire agir à chaud, en milieu alcalin, l'acétylacétone sur la streptomycine. Dans des conditions, une cyclisation se produit et le noyau de la méthylglucosamine se transforme en dérivés du pyrrole qui donnent une coloration rouge avec le réactif d'Ehrlich.

Technique du dosage :

1° Les réactifs :

Acétylacétone :

Acétylacétone	2 cm3
Eau distillée	q. s. p. 100 cm3

Réactif d'Ehrlich :

Paradiméthylaminobenzaldéhyde	0,8 g.
Alcool à 95°	30 cm3
Acide chlorhydrique chimiquement pur.	30 cm3

Lessive de soude à 30 %.

2° La réaction. On introduit dans un tube à essais :

Solution renfermant 100 à 500 gamma de streptomycine par cm3	1 cm3
Acétylacétone à 2 %	1 cm3
Lessive de soude	2 gouttes

Agiter. Porter au bain-marie bouillant pendant 10 minutes. Fermer le tube à l'aide d'une ampoule de verre qui tient lieu de réfrigérant. Refroidir à l'eau courante. Ajouter :

Réactif d'Ehrlich 2 cm3
Alcool à 95° 2 cm3

Agiter. Il se forme une coloration rouge.

3° Le dosage. - On opère simultanément sur 3 tubes.

Tube n° 1 : effectuer la réaction type sur 1 cm3 d'urine.

Tube n° 2 : effectuer la réaction type sur 1 cm3 d'urine, mais sans ajouter l'acétylacétone. Ce tube sert de témoin et permet d'éviter les erreurs dues aux substances donnant une coloration avec le réactif d'Ehrlich seul (indol par exemple).

Tube n° 3 : réaction type sur 1 cm3 d'une solution de streptomycine de titre connu, variant de 100 à 500 gamma par centimètre cube.

La lecture de la réaction peut se faire au colorimètre.

Remarque : On a parfois avantage à traiter l'urine par le dixième de son volume d'acétate basique de plomb. On élimine l'excès de plomb à l'aide de sulfate de sodium. La streptomycine passe dans le filtrat, et fournit une coloration plus pure.

Les méthodes utilisant le noyau de la streptidine offrent des possibilités multiples de dosages ; mais aucun d'eux n'est réellement pratique. Les réactions dues au noyau streptose offrent les mêmes inconvénients.

Par contre, la méthode de Scudi, Boxer, Jelineck est utilisable dans un laboratoire de clinique. La technique en est simple, le dosage rapide; mais cette méthode peu sensible, 50 gamma, n'est guère utilisable que pour les dosages dans l'urine où les concentrations sont élevées.

Aussi préférons-nous les méthodes biologiques aux méthodes chimiques pour titrer la streptomycine dans les liquides organiques. Seule, la réaction chimique à la méthylglucosamine nous semble pouvoir être utilisée dans un laboratoire de clinique pour les dosages de la streptomycine dans l'urine.

CHAPITRE II

ABSORPTION - DIFFUSION - ELIMINATION DE LA STREPTOMYCINE DANS L'ORGANISME

Après avoir étudié l'action in vitro de l'antibiotique sur divers germes, études que nous examinerons au chapitre traitant de la sensibilité des germes à la streptomycine, il convenait de préciser son action in vivo.

La traversée de la streptomycine dans l'organisme a fait l'objet de nombreux travaux, chez l'animal d'abord, et chez l'homme ensuite.

A. — CHEZ L'ANIMAL

Les recherches sur les animaux de laboratoire portent sur la souris, le cobaye, le lapin, le singe et le chien.

Chez la souris, Stebbins, Græssle et Robinson (278) notent une concentration de 6 gamma par cc. au bout de 15 minutes après injections de 5.000 unités par kgr. de poids.

50 à 80 % du produit s'éliminent par l'urine en 24 heures ; tandis que 5 à 10 % de la dose injectée sont retrouvés dans la bile du lapin.

Kornegay, Forgacs et Henley (170) dosent 8 gamma, 1/2 h. après injection de 5 à 10 mgr. par kgr. de poids.

Chez le cobaye, Feldman, Hinshaw et Mann (101), Kornegay, Forgacs et Henley (170) trouvent des doses analogues.

Chez le lapin, ces mêmes auteurs, puis Kolmer, Rule et Paul (168) enregistrent des taux de 3 à 23 gamma par cc., 30 minutes après l'injection de 100 à 1.000 unités par kgr. de poids.

Chez le chien, Stebbins, Græssle et Robinson (278), puis Graham, Van Der Brook et Knizenga (126), Kornegay, Forgacs et Henley (170) trouvent 45 à 65 % du produit dans les urines.

Chez le singe, Stebbins et ses collaborateurs (278) notent, après l'injection intra-musculaire de 8.000 gamma par kgr. de poids, des taux de 5 à 18 unités et une élimination urinaire de 60 %.

Kornegay, Forgacs et Henley, pour des doses de 1.500 gamma par kgr. de poids, trouvent des chiffres inférieurs (2,5 gamma au moment du clocher).

Chez le chien, Gutmann, Trockman et Ivy (128) ont constaté que la concentration maxima biliaire est atteinte de 2 à 3 heures après l'injection.

L'étude de l'absorption de la streptomycine chez l'animal révèle qu'il existe des différences appréciables selon l'espèce et l'individu. Selon Kornegay et ses collaborateurs, le cobaye et le lapin éliminent moins vite l'antibiotique, puis viennent dans l'ordre : le chien, le singe et la souris.

B. — CHEZ L'HOMME

L'étude de la résorption, de la circulation, de la diffusion et de l'élimination de la streptomycine dans l'organisme, a suscité de nombreux travaux :

Stebbins et Robinson (278), puis Heilman, Heilman, Hinshaw, Nichols, Herrel (138-139), Buggs, Bronstein, Hirsfeld (36), Zintel, Flipping, Nichols, Wiley et Road (307), Anderson et Jewell (8), Adcock et Hettig (3), May, Voureka et Fleming (222), E. Bernard, Kreiss, Mlle Grumbach et Netter (24), Sedaillan, Viatel et collaborateurs (267), Maral et Blandin (204), E. K. Marshall (205), Boxer, Jelinek et Tompsett (27) et R. Dubois (83-84).

Ces diverses études montrent que la traversée de l'organisme par la streptomycine obéit aux mêmes lois générales chez l'animal et chez l'homme.

La streptomycine, injectée par voie générale, passe rapidement dans la circulation puisqu'elle est décelable cinq minutes après l'injection. Rapidement résorbée, elle diffuse dans le sang, dans le L. C. R., dans l'exsudat péritonéal ou pleural, dans la bile, dans l'humeur aqueuse. Elle se transmet de la mère au fœtus.

L'antibiotique s'accumule dans les organes après injection parentérale. La majeure partie du produit s'élimine suivant un rythme rapide par le rein ; une partie bien moindre passe avec la bile dans l'intestin.

Nous étudierons successivement la résorption, la diffusion et l'élimination de la streptomycine dans l'organisme.

Dans nos conclusions, nous soulignerons les conditions d'application qui peuvent favoriser la présence dans l'organisme d'une dose bactériostatique et constamment bactériostatique, ceci afin d'éviter les doses sous-bactériostatiques dont on connaît l'importance dans le développement d'une résistance secondaire à l'antibiotique.

L'étude de la résorption, de la circulation, de la dispersion de la streptomycine offre un intérêt considérable pour la simple raison que l'effet thérapeutique de cet antibiotique est en fonction de sa concentration dans le sang circulant et, jusqu'à un certain degré, dans les tissus.

Résorption, circulation, dispersion et élimination de la streptomycine, autant de questions qu'il nous faut étudier en détail.

I. — Résorption de la streptomycine

Voies utilisées :

Injectée par voie intra-veineuse, sous-cutanée ou intra-musculaire, la streptomycine est rapidement résorbée et diffuse immédiatement dans le sang. Cette résorption peut être faci-

lement mise en valeur par le titrage de l'antibiotique dans le sang après l'injection.

La voix intra-veineuse discontinue n'offre guère d'avantages sur la voie intra-musculaire.

Déjà Heilman, Hinshaw et Herrell (139) avaient souligné le fait en dosant la streptomycinémie par la méthode des cups en gélose ou des slides cells.

Voie intra-musculaire :

— *une heure après l'administration de* 100 *mgr.* de streptomycine, les concentrations trouvées par les auteurs sont de:

— 3 gamma par cc.

— *trois heures après l'injection* .... 4,5 gamma par cc.
— *six heures après* ..... 3 gamma par cc.
— *neuf heures après* ..... 3 gamma par cc.
— *douze heures après* ..... 1,50 gamma par cc.

Voie intra-veineuse :

Après administration des mêmes doses, ces auteurs trouvent :

— *une heure après l'injection* ..... 3,50 gamma par cc.
— *trois heures après* ..... 1,50 gamma par cc.
— *six heures après* ..... 1,50 gamma par cc.
— *neuf heures après* ..... 1,50 gamma par cc.
— *douze heures après* ..... 1,50 gamma par cc.

Adcock et Hettig, après injection intra-veineuse de 200 mgr., constatent la présence de :

— 32 unités immédiatement après l'injection ;
— 8 unités au bout de 2 heures ;
— 1 à 2 unités après 12 heures.

Après administration de la même dose intra-musculaire, les auteurs dosent 16 unités par cc. au bout d'une heure et des quantités encore décelables au bout de 12 heures.

Elias et Durso (90) ont réalisé des dosages analogues sui des malades atteints de fièvre typhoïde, qu'ils ont traités avec

1 à 4 gr. par jour, en injections fractionnées, toutes les trois heures.

Le taux maximum se situe dans la première heure, mais s'obtient plus rapidement lors des injections intra-veineuses ; l'élimination semble totale vers la 24e heure dans les deux cas.

Zintel (307), après injection intra-veineuse de 600 mmgr., a provoqué dans le sang l'apparition de 32,5 unités en 15 minutes, suivie d'une chute atteignant 4,9 unités en 6 heures.

L'administration intra-musculaire est suivie d'une streptomycinémie de 26,5 unités par cc. après la 3e heure et de 8 unités après la 6e heure.

En somme, les injections intra-veineuses provoquent un clocher antibiotique supérieur au clocher obtenu par la voie intra-musculaire, mais, dans ce cas, le clocher est obtenu moins rapidement, la chute de la streptomycinémie est plus lente, la résorption a lieu moins rapidement, l'élimination paraît légèrement prolongée.

De plus, l'administration du produit irrite la paroi veineuse et des thromboses, au point d'injection, ont été signalées par Heilman Dh., Heilman Fr. (138).

Pour ces diverses raisons, indolence, résorption plus lente, la voie intra-musculaire a réuni les suffrages et est actuellement la seule employée.

Reconnaissons pour l'instant que, quel que soit le mode d'injection de cet antibiotique, sa résorption est rapide. L'emploi des modificateurs physico-chimiques utilisés pour la pénicilline fait espérer que la résorption pourrait être retardée. Nous verrons par la suite que ces modificateurs n'ont pas les mêmes effets que pour la pénicilline.

II. — Circulation de la streptomycine

Concentration de la streptomycine dans le sang en fonction des doses injectées

La nécessité d'un contrôle rigoureux de la concentration sanguine en streptomycine nous a incité, dès le début de l'application thérapeutique du produit, à le doser dans le sang.

Il nous est apparu qu'un seul dosage fait à heure fixe renseignait très mal sur la diffusion de l'antibiotique dans l'organisme et son élimination.

Afin de préciser ces facteurs, nous avons tracé des courbes de streptomycinémie de nos malades, en fonction de la dose injectée.

Technique utilisée :

Les prélèvements sont effectués avant l'injection intramusculaire du produit, puis tous les quarts d'heures après l'injection une heure durant, puis toutes les demi-heures, puis toutes les heures, ce dans la mesure du possible.

Une asepsie rigoureuse doit être observée.

Le sang est centrifugé à faible vitesse pour éviter l'hémolyse et le dosage effectué sur le sérum.

Nous avons utilisé pour ces dosages la technique des dilutions sériées de Sureau et Chabbert.

a) INJECTIONS INTRA-MUSCULAIRES DE 166 MILLIGRAMMES

Nous rapportons dans notre travail deux courbes de concentration sanguine de la streptomycine après injection intramusculaire de 166 milligrammes.

On y constate l'élévation rapide de la teneur du sang en streptomycine puisque le clocher antibiotique se situe entre la 10e et 30e minute après l'injection ; la concentration sanguine oscille alors entre 11 et 16 gamma par cc., elle décroît rapidement et progressivement pour atteindre 3 à 6 gamma par cc. vers la 2e heure et 3 gamma par cc. vers la 4e heure.

Ces résultats sont analogues à ceux obtenus par Buggs, Pilling et collaborateurs (36), par Adcock, Hettig (3) qui, pour une injection de 100 milligrammes, trouvent au bout de 5 à 30 minutes un clocher antibiotique aux environs de 16 gamma par cc. et ne dosent plus que 7 gamma par cc. à la fin de la première heure.

Hinshaw, Heilman (139), par la méthode des cups en gélose, ne trouvent que 3 gamma, 5 par cc. à la fin de la première

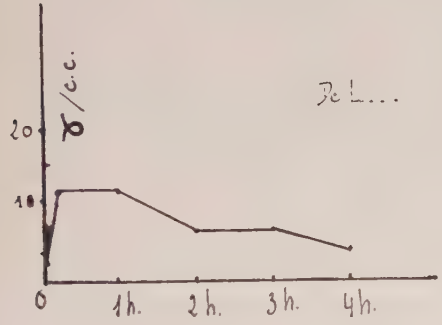
heure et 1 gamma, 5 au bout de 3 heures (pour une injection de 100 milligrammes).

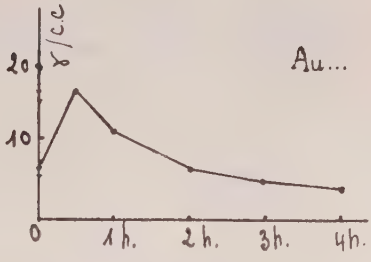
Keefer et Blake (153), pour une dose de 100 milligrammes, ne retrouvent que 2 gamma par cc. au bout de 3 heures.

Maral et Blandin (203), pour une dose identique, situent le clocher antibiotique à la deuxième heure ; l'élimination serait, pour ces auteurs, plus lente que sur nos courbes, puisqu'ils dosent 6 gamma par cc. à la quatrième heure et 4 gamma par cc. au bout de 8 heures.

Cependant, outre les courbes d'éliminations que nous présentons ici, les résultats des dosages multiples effectués sur des malades traités pour des doses de 166 milligrammes toutes les 4 heures nous ont montré que la concentration sangui-

DOSE INJECTEE	CONCENTRATION SANGUINE						
	avant	10'	30'	1 h.	2 h.	3 h.	4 h.
DE LE ..... 166 mg	3,54	11		11	6,25	6,25	3,54
AU ..... 166 mg	6,30		16,5	11	6,30	4,80	3,20





ne en streptomycine tombait au-dessous de 3 gamma par cc. après la 4e heure ; par la suite, la streptomycine n'existe dans le sang qu'à des taux sous bactériostatiques. Il convient donc, si l'on procède par injection de 166 milligrammes, de les répéter toutes les trois heures, afin de maintenir constamment un taux de streptomycinémie bactériostatique, réserves

faites, naturellement, des facteurs individuels intervenant dans l'élimination du produit, ainsi que de la résistance à l'antibiotique du germe en cause.

b) INJECTIONS INTRA-MUSCULAIRES DE 333 MILLIGRAMMES

Nous rapportons quelques courbes de concentration sanguine de streptomycine après injections de 333 mgr. intra-musculaires.

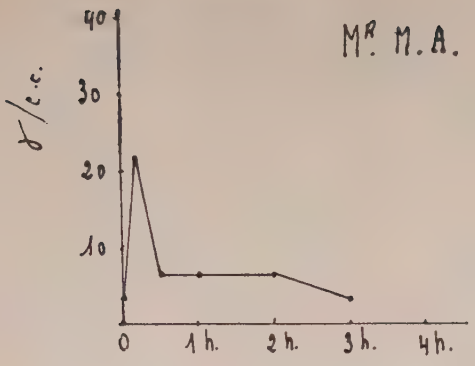
Dans deux cas (cour. M^mes^ Vi.... et D...), les premiers dosages après l'injection, n'ont pu être pratiqués qu'au bout d'une heure ; il est vraisemblable que nous avons manqué le clocher antibiotique.

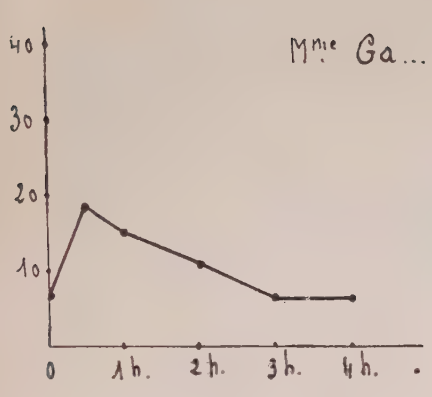
Comme pour les injections de 166 mgr., le clocher antibiotique apparaît rapidement entre les quinze et trente premières minutes après l'injection ; la teneur du sang en antibiotique se situe alors entre 15 et 23 gamma par cc. ; puis la concentration sanguine baisse progressivement ; il subsiste dans le sang 10 à 12 gamma par cc. au bout de deux heures, 4 à 8 gamma par cc. au bout de trois heures et 2 à 5 gamma par cc. vers la quatrième heure.

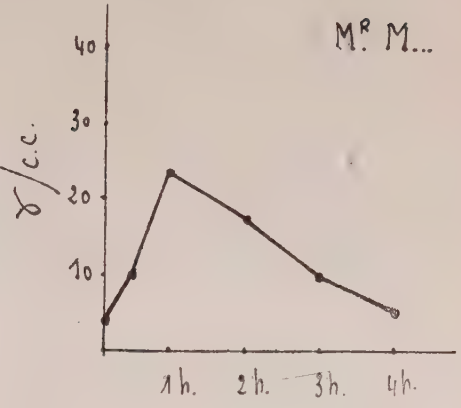
Si l'on compare nos résultats à ceux déjà relatés, on constate l'identité de nos chiffres à ceux donnés par Keefer (152) qui, pour des doses de 300 mgr., situe la concentration sanguine entre 6 à 8 gamma par cc. à la deuxième heure.

Buggs, Pilling, pour des injections intra-musculaires de 400 mgr., dosent 10 à 15 gamma par cc. une heure après l'injection, 8 gamma par cc. deux heures après et 4 à 6 gamma par cc. à la quatrième heure.

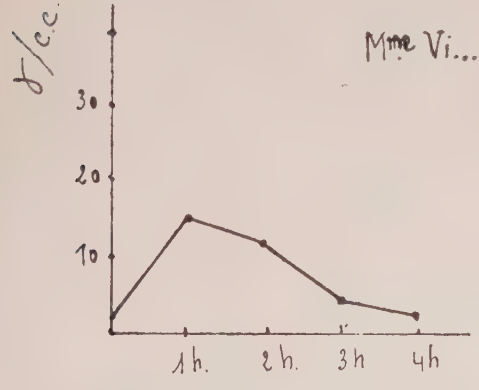
Sedaillan, Viatel et Maral (266), exprimant la moyenne de plusieurs dosages, situent le clocher antibiotique au cours de la deuxième heure. Pour des injections de 330 mgr., ces auteurs dosent 36 gamma par cc. à la deuxième heure et 12 gamma par cc. à la quatrième heure.

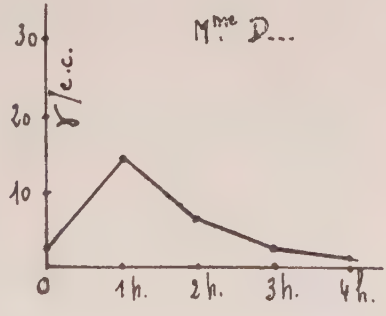






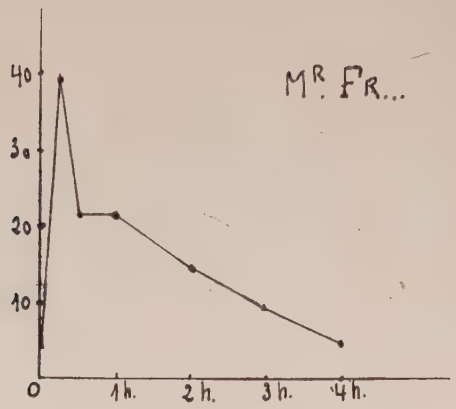
Les courbes de Mme G..., de Mme M..., de M. M... A... représentent le type de courbe d'élimination le plus souvent retrouvé après injection intra-musculaire de 333 milligrammes.





La courbe de Mme V... montre une élimination plus rapide. De même celle de Mme D...

Maral et Blandin (204), dans le *Journal de Médecine de Lyon*, publient une courbe dont le clocher se situe vers la deuxième heure à 12 gamma par cc. ; il subsiste 9 gamma par cc. à la quatrième heure et 6 gamma par cc. à la huitième heure.



L'élimination est légèrement retardée.

Les examens de la fonction rénale révélèrent une azotémie élevée, le malade avait une néphrite.

Ces chiffres nous paraissent un peu élevés ; nous n'avons que rarement trouvé des concentrations sanguines de 8 gamma par centicubes quatre heures après l'injection intra-musculaire de 335 milligrammes.

Le taux de streptomycinémie tombe au-dessous du seuil bactériostatique à partir de la quatrième heure. D'où la nécessité de répéter l'injection intra-musculaire du produit à ce moment, c'est-à-dire toutes les quatre heures.

Dose injectée	CONCENTRATION SANGUINE						
	10' avant	15' après	30' après	1 h.	2 h.	3 h.	4 h.
Mme Vi. — 333 mg	1,75			15	11,64	4,35	2,50
Mme Go. — 333 »	6,25		18,57	15	11	6,25	6,25
Mme D. — 333 »	1,16			14,66	6,25	2,50	1,58
Mlle D. — 333 »		3,54		6,25	4,50	2,50	1,93
M. M. — 333 »	3,54	5,60	10	23,10	17,5	10	5,62
M. M. A. — 333 »	3,54	21,42	6,25	6,25	6,25	3,54	
M. Fr. — 333 »	3,86	38,58	21,28	21,28	14,20	9,35	4,47

c) INJECTIONS INTRA-MUSCULAIRES DE 500 MILLIGRAMMES

Nous rapportons ici quatre courbes de concentration sanguine de la streptomycine au cours des 12 heures qui suivent l'injection intra-musculaire de 500 mgr.

Le clocher antibiotique apparaît trente à quatre vingt dix minutes après l'injection, la teneur du sang se situe aux environs de 21 gamma par cc., 31 gamma par cc. dans le cas n° 4.

° Puis la concentration sanguine baisse rapidement pour tomber à un taux de 3 à 7 gamma par cc. à la quatrième heure, taux qui se maintient jusqu'à la sixième heure après l'injection ; par la suite, il subsiste 3 à 4 gamma par cc. à la huitième heure et 1 gamma par cc. environ, à la douzième heure.

Heilman, Hinshaw (138) situent le clocher antibiotique à la première heure, avec des taux de 28 à 35 gamma par cc., qui tombent à 10 gamma par cc. vers la quatrième heure et 5 gamma par cc. à la sixième heure.

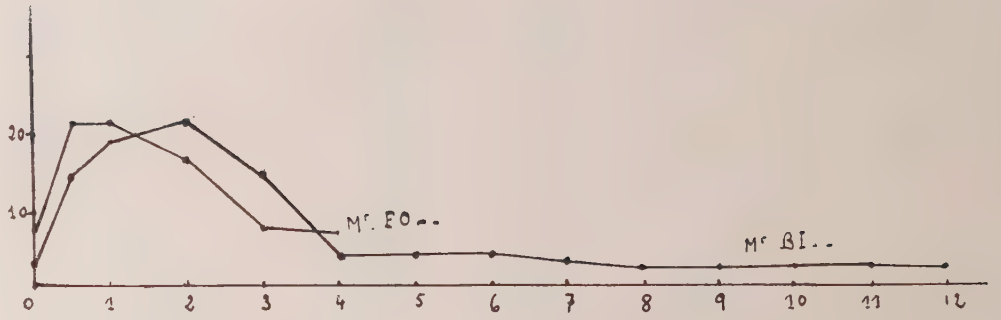
Pour Adcock et Hettig (3), le clocher a lieu trente minutes après l'injection ; la concentration sanguine est de 41 gamma par cc. Au bout de quatre heures, il subsiste 7 gamma par cc., et 3 gamma par cc. au bout de huit heures.

Keefer (153), trois heures après l'injection, signale des taux de 9 à 10 gamma par cc.

Buggs et Pilling (36) dosent 15 à 20 gamma par cc. durant les deux premières heures, 10 à 15 gamma par cc. à la quatrième heure.

E. Bernard, Kreiss et Grumbach (24) indiquent 3 gamma par cc. au bout de douze heures et Zintel (307) 8 gamma par cc. à la sixième heure.

Pour Sureau et Chabbert (282), le clocher se situe à la première heure et atteint 24 gamma en moyenne ; à la quatrième heure il subsiste 6 gamma par cc. de sang et la concentration tombe à 3 gamma à la cinquième heure.

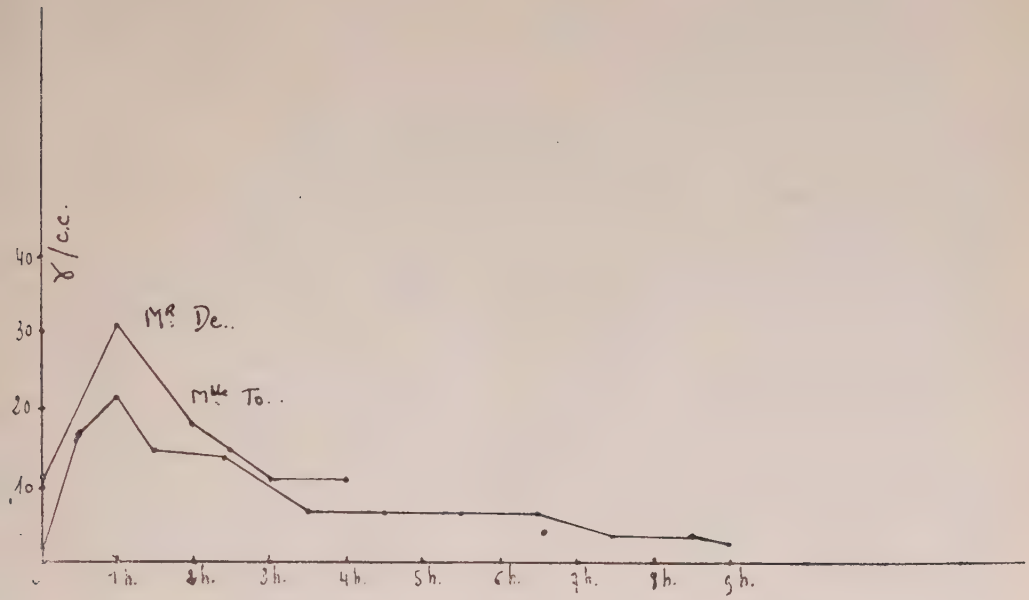


2 GRAMMES INTRA MUSCULAIRES 500 mgs

	avant	10'	15'	30'	45'	1 h.	2 h.	3 h.	4 h.	5 h.	6 h.	7 h.	8 h.	9 h.	10 h.	11 h.	12 h.
M. CE.		3,54				6,25	6,25	3,54	2,50	1,45	1,43						
M. FO.	7,18			21,24		21,24	16,77	7,18	6,35								
M. BI ..	2,50			14,1		18,88	21,11	14,1	3,22	3,22	3,22	2,50	1,33	1,33	1,33	1,27	1,05
M. DE.	11					31	18	11	11								

	avant		15'	30'	45'	1 h.	1 h. 30	2 h. 30	3 h. 30	4 h. 30	5 h. 30	6 h. 30	7 h. 30	9 h.	10 h.	11 h.	12 h.
Mlle TO.	1,93			16.38		21,42	14,66	14,66	6,25	6,25	6,25	6,25	3,54	2,50			

Il ressort de ces divers travaux publiés et des résultats que nous rapportons que la concentration sanguine de la streptomycine après injection intra-musculaire de 500 mgr. atteint 20 à 25 gamma par cc. environ une heure après l'injection ; puis, la concentration tombe après la 6e heure à des doses sous-bactériostatiques ; d'où la nécessité de faire une nouvelle injection à ce moment-là.



d) INJECTIONS INTRA-MUSCULAIRES DE 1 GRAMME

Nous rapportons ici quelques courbes de concentration sanguine obtenues après injection intra-musculaire de 1 gramme.

Les courbes montrent la rapide ascension du taux de la streptomycine après l'injection intra-musculaire, puisqu'elle atteint, au bout de quelques minutes, 15 gamma par centicube. Le clocher antibiotique apparaît beaucoup plus tard que dans les cas précédents, entre la 90e et la 110e minute après l'injection.

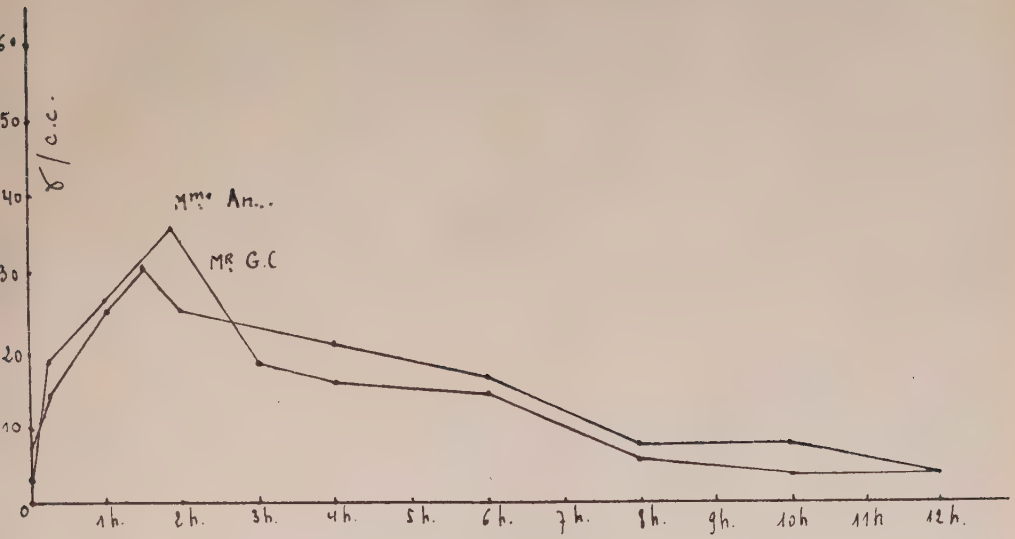
La streptomycine atteint jusqu'à 50 gamma par cc. ; quatre de nos cas se situent aux environs de 34 gamma par cc., un autre vers 19 gamma par cc.

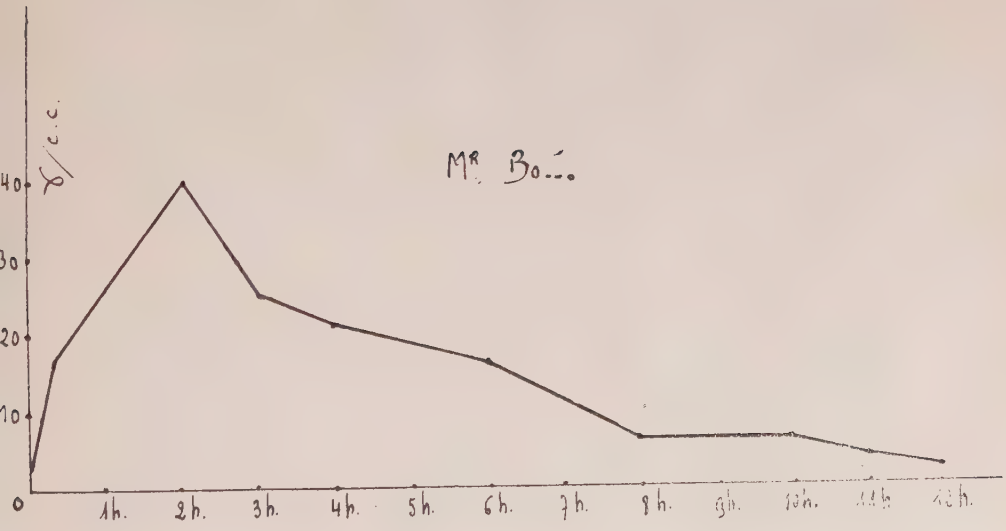
2 GRAMMES PAR JOUR INTRA-MUSCULAIRES — 1 gramme toutes les 12 heures

	av.	15'	30'	45'	1 h.	2 h.	3 h.	4 h.	5 h.	6 h.	7 h.	8 h.	9 h.	10 h.	11 h.	12 h.
Mme De	1,52	7,18			12,62	18;74	12,62	12,62		7,18		2,86		1,81		1,52
G. C. Laryngite tbc.	6,25	14,66			25,33	25,33		21,42	16,38	16,38		7,18		6,25		3,54
Mme AN.	3,02	18,32			26,5	34,16	18,32	15,89		14,02		5,31		3,02		3,02
Mme AU. tbc. pulm.	3,54				31	21,42		11		6,25						
Mr. La.	0,87	16,5			50,33	34,16	34,16	17,42		16,5				6,50		3,02
Bo.	2,50	16,38			25,33	40	25,33	21,63		16,38		6,25		6,25	4	2,50

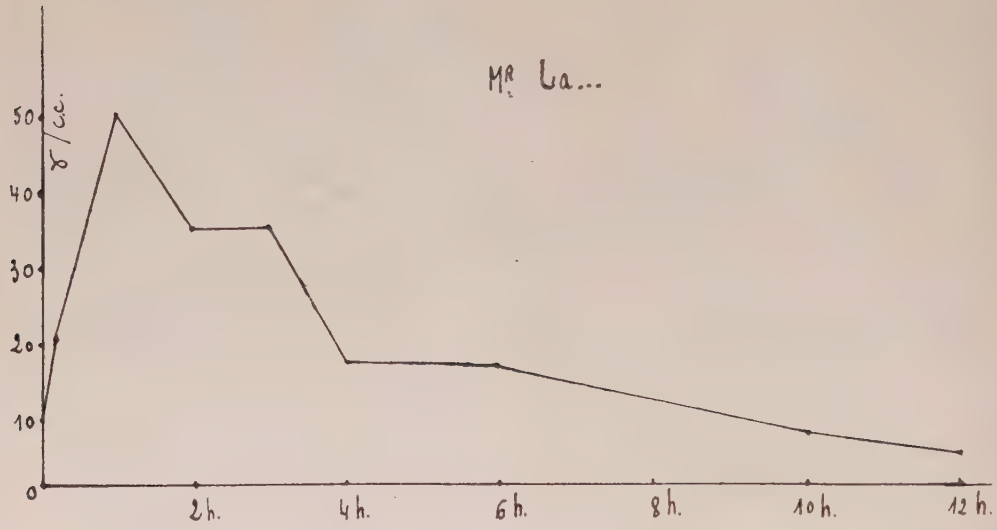
3 grammes en 3 injections toutes les 8 heures

Mme E. Septicémie à staphylo	3,54	56,66			100	120		16,38		11		11				


δ/c.c.
Mme An...
Mr G.C
0
10
20
30
40
50
1h.
2h.
3h.
4h.
5h.
6h.
7h.
8h.
9h.
10h
11h
12h.


δ/c.c.
Mr Bo...
0
10
20
30
40
1h.
2h.
3h.
4h.
5h.
6h.
7h.
8h.
9h.
10h.
11h.
12h.

Puis la concentration sanguine baisse progressivement mais demeure élevée puisqu'elle atteint 10 à 16 gamma par cc. à la sixième heure qui suit l'injection, 4 à 6 gamma par cc. à la dixième heure et 2 à 5 gamma par cc. à la douzième heure.



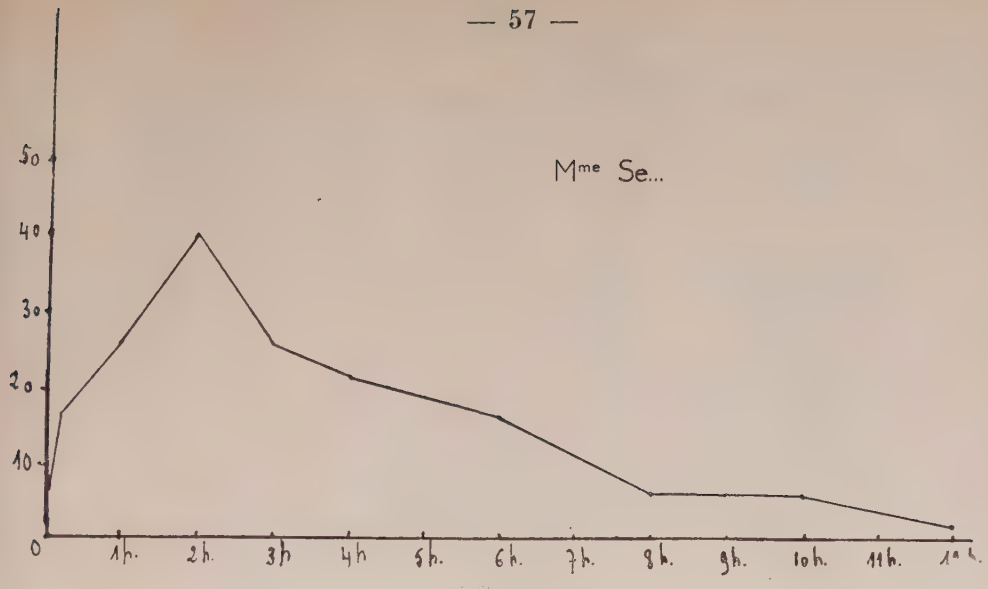
Maral et Blandin rapportent des résultats analogues puisqu'ils dosent 38 gamma à la deuxième heure au moment du clocher antibiotique ; la concentration baisse ensuite pour atteindre 28 gamma par cc. à la quatrième heure.

Les injections intra-musculaires de 1 gr. entraînent une forte cencentration sanguine avec un clocher antibiotique élevé; par la suite, l'élimination du produit se poursuit lentement jusqu'à la douzième heure, moment de la nouvelle injection.

Remarque :

Les courbes que nous rapportons indiquent les taux sanguins de streptomycine par rapport au moment de l'injection. Certaines courbes paraissent décapitées, et nous n'avons certainement pas toujours pu attraper le clocher antibiotique.

Si l'on tient compte des travaux de Boxer, Jelinek, Tompsett et Du Bois (27-28), il est facile de restituer à ces courbes leur aspect intégral. Ces auteurs ayant étudié l'élimination de



Courbes identiques d'élimination de 1 gramme
après injection intra-musculaire

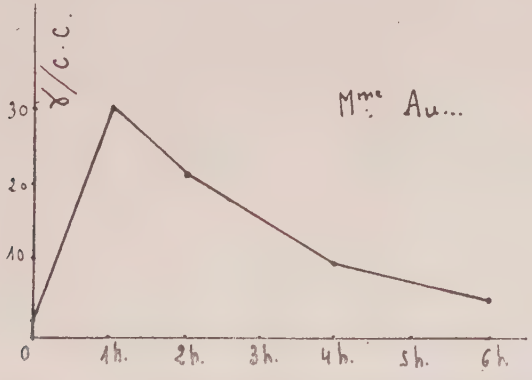
la streptomycine, par le dosage chimique à l'hydrazine, trouvent que les chiffres de streptomycinémie décroissent dans le temps suivant une loi logarithmique. si :

— C est la concentration à l'instant t,

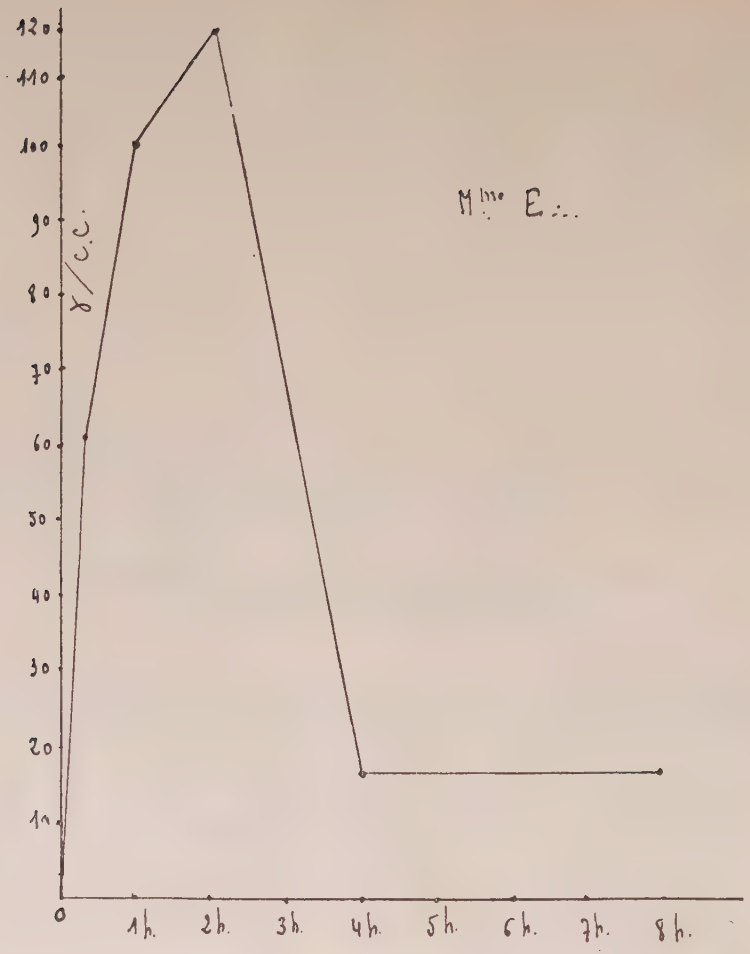
— Co la concentration extrapolée à l'instant t = o,

On a la relation suivante : Log C = Kt + log Co.

L'application de cette formule à nos courbes montre que cette relation est vérifiée.



Mme Au... : faible clocher, élimination rapide



1 gr. toutes les 8 heures. Effet d'accumulation.

e) COMPARAISON DES COURBES DE CONCENTRATIONS

1. - Nécessité des contrôles de la concentration sanguine :

Les diverses courbes que nous rapportons montrent qu'il existe des variations notables dans la résorption et l'élimination du produit, non seulement selon les doses, mais aussi selon les individus qui résorbent, éliminent l'antibiotique suivant un rythme propre à chacun.

Cependant, dans l'ensemble, les courbes se rapprochent d'un type moyen qui nous permettra d'énoncer plus loin quelques règles dans les modalités d'application du produit; mais nous allons voir qu'il n'en est pas toujours ainsi.

A des résorptions lentes correspondent des clochers tardifs, peu élevés, alors qu'une résorption rapide se traduit sur le graphique par un clocher précoce et élevé.

Ces variations dans la vitesse de résorption sont attribuées à des facteurs personnels complexes, mais qui paraissent relever de l'état d'imbibition du tissu, de la masse sanguine et de la vitesse circulatoire, de la pression osmotique des protides dont les variations sont considérables chez ces malades parfois longtemps comateux.

Les résultats obtenus pour un ensemble de 500 dosages avec les doses usuelles de streptomycine peuvent être schématisés ainsi :

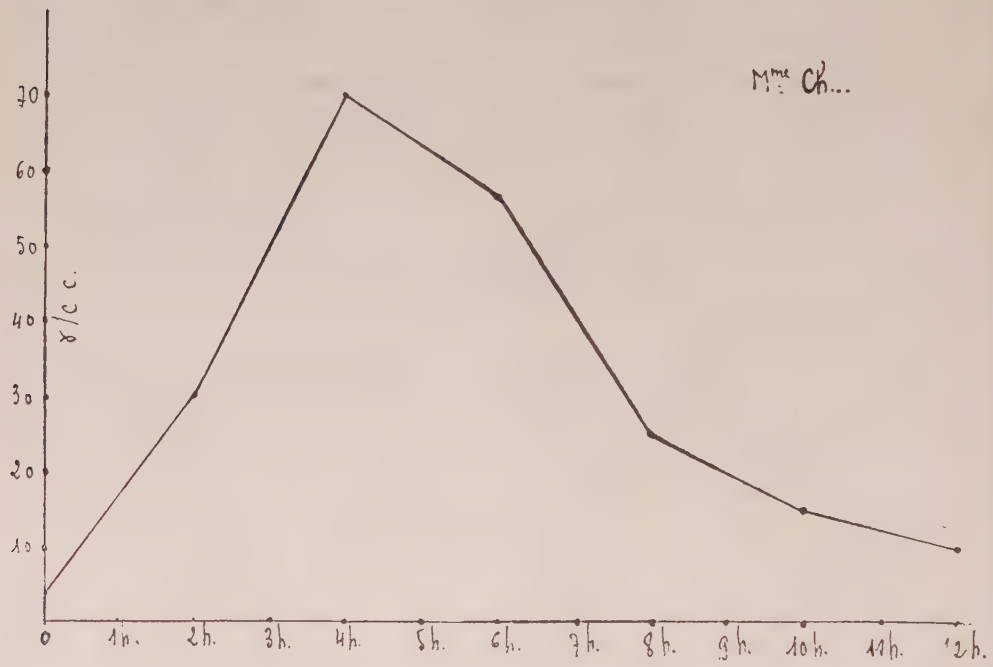
Dose injectée	Concentrations dans le sang (en gamma par cc.)		
	Maximum	après 4 heures	après 12 heures
166 milligrs	5 à 16	1 à 2	—
333 »	6 à 21	1,5 à 6	—
500 »	15 à 30	5 à 8	traces
1 gramme	20 à 60	10 à 15	2 à 5

L'élimination rapide se traduit par une chute brusque de la courbe alors qu'un clocher élevé et une courbe qui s'infléchit lentement traduisent une élimination lente devant faire suspecter une altération du parenchyme rénal.

Nous rapportons une courbe d'un malade (M. Ch...) traité à raison de 1 gramme par jour, à raison de 2 injections, dont le clocher atteint 70 gamma avec une courbe d'élimination extrêmement retardée. Un nouveau contrôle montra des chiffres identiques. Les examens de la fonction rénale révélèrent chez ce malade une azotémie et une constante d'Ambard élevée et une épreuve à la phénol-sulfone-phlaléine déficiente.

Chez un autre malade, la concentration sanguine élevée nous fit suspecter une lésion rénale vérifiée par les examens de cette fonction. Le malade mourut un mois plus tard d'azotémie.

La constatation d'une concentration sanguine élevée, d'une élimination lente, feront toujours suspecter un déficit de la fonction rénale.



Cependant, il peut exister des éliminations ralenties, sans altération du filtre rénal.

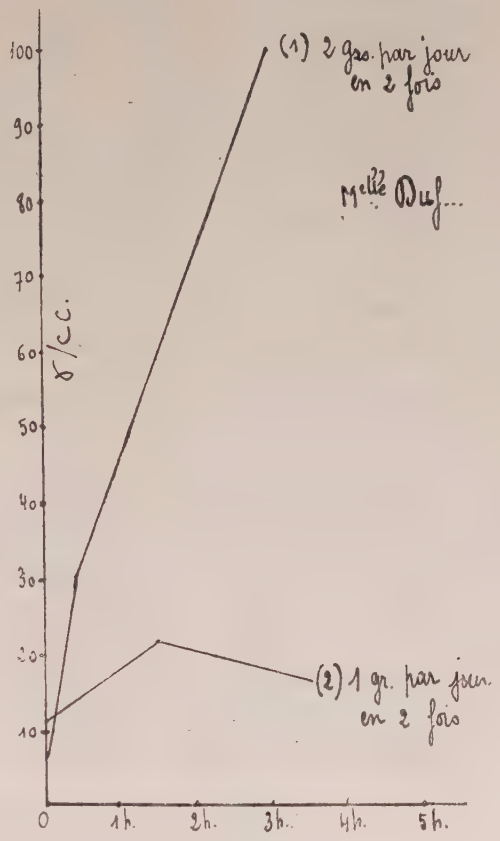
Une de nos malades, Mlle Duf., présentait des céphalées, vomissements, une torpeur, signes imputables aussi bien à la méningite qu'à l'action toxique de la streptomycine. Cette malade était soumise au traitement d'attaque : 100 milligrammes par jour, par voie rachidienne et 2 grammes par voie intramusculaire en 2 injections fractionnées.

La streptomycinémie s'élevait à 100 gamma à la 3e heure et ce chiffre ne représente peut-être pas le clocher antibiotique,

la streptomycinorachie était de 11 gamma avant l'injection. La perméabilité rénale n'était pas altérée.

Les doses furent rapportées à 1 gramme par jour en 2 injections. On poursuivit les injections rachidiennes. La céphalée, les vomissements, la torpeur s'amendèrent dès les modifications de la posologie.

Une nouvelle courbe de streptomycinémie montre des concentrations élevées pour une posologie de 1 gramme par jour ; la courbe se rapproche des courbes types de 1 gramme en une injection ; le clocher atteint 22 gamma, 1 heure 30' après l'injection ; il subsiste 16 gamma par cc. 3 heures 30' après l'injection et à la 12e heure, la concentration atteint encore 11 gamma.



Nous voyons, en réalité, la complexité du problème et la difficulté d'une thérapeutique streptomycinée où l'importance des facteurs individuels dus ou non à des lésions parfois patentes, parfois méconnues impose aux thérapeutes un contrôle biologique fréquent.

2. - Conclusions :

De l'étude comparée des diverses courbes de concentration sanguine de la streptomycine après injections intra-musculaires de doses diverses, trois conclusions se dégagent.

A des doses plus fortes correspondent des clochers antibiotiques plus élevés :

166 milligrammes : 11 à 16 gamma.
333 » : 15 à 21 »
500 » : 21 à 30 »
1.000 » : 31 à 60 »

A des doses plus fortes correspondent des clochers antibiotiques plus tardifs par rapport au moment de l'injection :

166 milligrammes : 10 à 30 minutes.
333 » : 15' à 1 heure.
500 » : 30' à 1 heure 30.
1.000 » : 1 heure à 2 heures.

A des doses plus fortes correspondent des éliminations plus lentes :

166 milligrammes : 3 à 4 heures.
333 » : 4 à 6 heures.
500 » : 6 à 8 heures.
1.000 » : 11 à 13 heures.

Les conclusions nous permettent d'énoncer la proposition suivante : le niveau, la durée de la concentration sanguine de la streptomycine dépendent de la dose injectée.

3. - Déductions thérapeutiques :

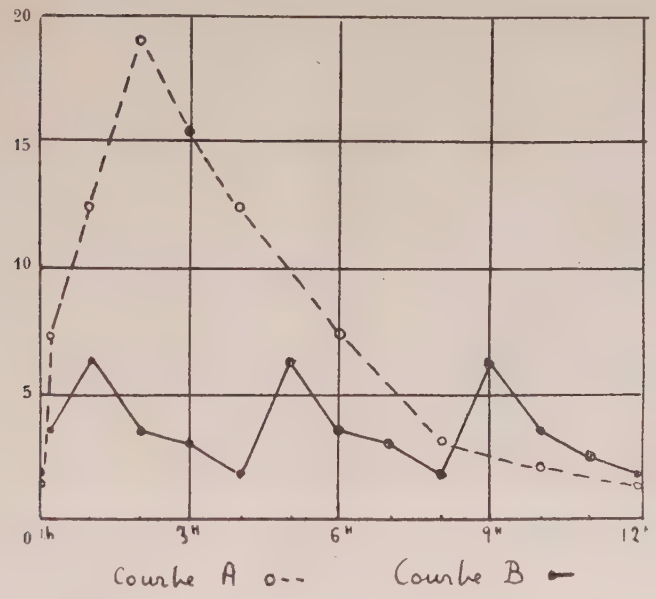
Rythme des injections fractionnées

Pour des doses de 166 milligrammes, les injections doivent être répétées tous les trois heures; toutes les quatre heures pour des doses de 333 milligrammes; toutes les six heures pour des doses de 500 milligrammes; toutes les douze heures pour des doses de un gramme. Passé ce délai, la concentration sanguine atteint des taux trop faibles, sous-bactériostatiques, qui favorisent le développement de la résistance du germe à l'antibiotique.

Choix de la dose optima

La dose optima doit permettre d'obtenir une concentration constamment bactériostatique et durable.

L'étude précédente nous a montré qu'aux injections de fortes doses correspondent des concentrations sanguines plus élevées, une élimination plus lente, tandis que les faibles doses entraînent des concentrations sanguines plus basses et une élimination plus rapide. La répétition des injections permet-elle en définitive, pour une même dose journalière, de maintenir la streptomycine au même taux qu'une injection massive de la même dose quotidienne.



Les courbes de M^me^ De... mettent en évidence, de façon particulièrement démonstrative, la supériorité de l'injection massive de 1 gramme sur les injections fractionnées de 333 milligrammes.

Si l'on procède au rapport des surfaces délimitées par ces courbes, on constate que l'aire délimitée par la courbe de concentration sanguine correspondant à l'injection de 1 gr., donc proportionnelle à cette concentration, est supérieure aux

aires délimitées par les courbes à 333 milligrammes dans le rapport 2,25.

Les injections de fortes doses seront préférées, pour cette raison, aux injections fractionnées de la même quantité de produit.

On conçoit l'intérêt de cette méthode, d'ailleurs recommandée actuellement par les notices accompagnant les flacons de streptomycine MERCK.

Aux injections de fortes doses correspondent des clochers antibiotiques plus élevés et une élimination plus lente ; ces faits nous semblent favorables à l'action de la streptomycine.

a) *Les clochers antibiotiques :* Pendant longtemps ces clochers antibiotiques réunirent bien des suffrages et l'on s'attachait à provoquer chez le patient des clochers périodiques auxquels on attribuait la valeur d'un coup de bélier ; d'autres auteurs, au contraire, se sont attachés à maintenir constante la concentration bactériostatique sanguine de l'antibiotique.

L'obtention de fortes concentrations de streptomycine se justifierait par le fait que cet antibiotique bactériostatique a faible concentration aurait un effet bactériolytique à concentration élevée, ainsi que le démontrent les travaux de WAKSMAN, REILLY et SCHATZ (292), ainsi que ceux de LEVADITI (178) qui considèrent la streptomycine comme un agent bactéricide puissant dévitalisant les micro-organismes d'autant plus rapidement que la concentration est plus élevée.

L'interprétation du mode d'action de la streptomycine peut nous aider à saisir son action biologique. MASSART, PEETERS et VAN HOUCKE (214) considèrent que l'antibiotique forme un complexe électro-absorptif avec les nucléo-protides des levures, et COHEN (53-54) prouve, par ailleurs, que la streptomycine se combine avec les acides nucléiques en produisant des composés polymères. Il apparaît vraisemblable que la facilité qu'offre la streptomycine de s'unir avec l'acide nucléique puisse expliquer ces effets antibactériens in vivo.

De toute évidence, les concentrations élevées favorisent, par la multiplication des molécules d'antibiotique autour de la

bactérie, la fixation d'une plus grande quantité de streptomycine sur le corps microbien.

Ainsi pourrait-on expliquer que les clochers antibiotiques élevés favorisent l'effet bactéricide de la streptomycine ; on conçoit donc l'intérêt de les provoquer.

De plus, il existerait des individus résistant d'emblée à la streptomycine dans les cultures, ainsi que le démontrent Alexander et Leidy (4), Klein et Kimmelman (160-161), tout comme Luria et Delbruck (199), Demerec et Fano (78) l'avaient démontré pour la pénicilline.

Les fortes concentrations au moment du clocher sont donc susceptibles d'atteindre, sinon la totalité, du moins une partie des germes résistants. On conçoit donc la nécessité de ces clochers.

b) *Elimination plus lente :* L'emploi des doses faibles, outre les faibles clochers qu'il détermine, provoque également la répétition des zones de faible concentration ; l'activité biostatique de ces concentrations est incomplète et favorise le développement des germes résistants ou persistants (persisters) qui assurent la repousse (C. Levaditi et J. Henri) (179-180).

Avec les fortes doses, au contraire, ces zones, que l'on pourrait appeler justa-biostatiques, sont beaucoup moins fréquentes puisque ne se renouvelant que 2 fois par jour au lieu de 8, 6 ou 4 fois selon la dose injectée.

En résumé, les injections de fortes doses de streptomycine présentent donc maints avantages sur les injections fractionnées de mêmes doses : Supériorité des concentrations sanguines qu'elles déterminent, clochers antibiotiques plus élevés pour lesquels la streptomycine serait bactéricide pour les germes, effet antibiotique des fortes concentrations sur les individus résistants d'emblée, diminution des temps de faible concentration qui précèdent les injections.

Tels sont les avantages théoriques dus à l'emploi des fortes doses de streptomycine.

En pratique, elles facilitent le travail du personnel infirmier et, si elles présentent l'inconvénient d'être plus douloureuses pour le malade, elles lui permettent cependant un meilleur repos.

Depuis dix-huit mois, M. le Professeur Damade utilise cette technique dans le service des maladies infectieuses. Les accidents toxiques ne sont pas plus fréquents qu'avec les autres méthodes et les résultats cliniques comparables aux autres statistiques (61).

f) UTILISATION DES VEHICULES RETARDS

Comme pour la pénicilline, divers véhicules retards, associés aux injections de streptomycine, ont été essayés dans le but de retarder l'élimination du produit, d'obtenir une concentration sanguine plus élevée, plus constante et plus durable.

La constatation du retard très important apporté à l'élimination de la streptomycine comme à celle de la pénicilline, dans le cas de lésions rénales, devait amener certains auteurs à utiliser des substances susceptibles de réduire cette élimination. On avait émis l'hypothèse, pour la pénicilline, que celle-ci ne passe pas seulement par le filtre glomérulaire, mais qu'elle est excrétée par les tubes rénaux, et on a pensé que l'on pourrait diminuer cette élimination par blocage médicamenteux de la fonction excrétoire.

Rammelkamp et Keefer (250) essayent l'injection simultanée de streptomycine et de diodrast. Berger et collaborateurs ont étudié l'effet de l'acide amino-hyppurique sur le blocage de l'excrétion rénale. De très nombreux auteurs se sont efforcés de remplacer le sérum physiologique, solvant ordinaire de la pénicilline, par un solvant susceptible de retenir l'antibiotique. Romansky et Rittman (258) préparent un mélange de cire d'abeille et d'huile d'arachide, expérimenté sur la streptomycine par J. A. Kolmer et coll. (165-166). Les conclusions de ces auteurs sont les suivantes : Pour maintenir un minimum efficace de concentration dans le sérum, il est

nécessaire d'injecter plus de 500.000 unités par dose. Nous discuterons plus loin cette proposition.

D'autres huiles ont été employées, comme l'huile coton par Libby, tandis que Harwood proposait l'œuf cru. D'autres ont employé la gélatine, l'agar, la méthy-cellulose avec des succès variables.

EMPLOI DU POLYVINYLPYRROLIDONE

Ce produit, de poids moléculaire élevé (5.000) et de viscosité très grande, commercialisé sous le nom de subtosan, connaît actuellement une grande vogue dans l'administration de la pénicilline pour laquelle son effet retard n'est plus à prouver. R. Maral et Mlle A. Blandin ont étudié les effets de l'association de la streptomycine-subtosan chez l'animal (lapin) et chez l'homme. Leurs conclusions sont les suivantes : « Il y a » un effet retard très net grâce à l'association streptomycine-» subtosan 25 %. Cet effet de retard se traduit par un déplacement du clocher bactériostatique — une heure environ — » et par la persistance de concentration élevée dans le sang.

» Le clocher bactériostatique est presque aussi élevé avec » le subtosan qu'avec le sérum physiologique. »

TRAVAUX PERSONNELS

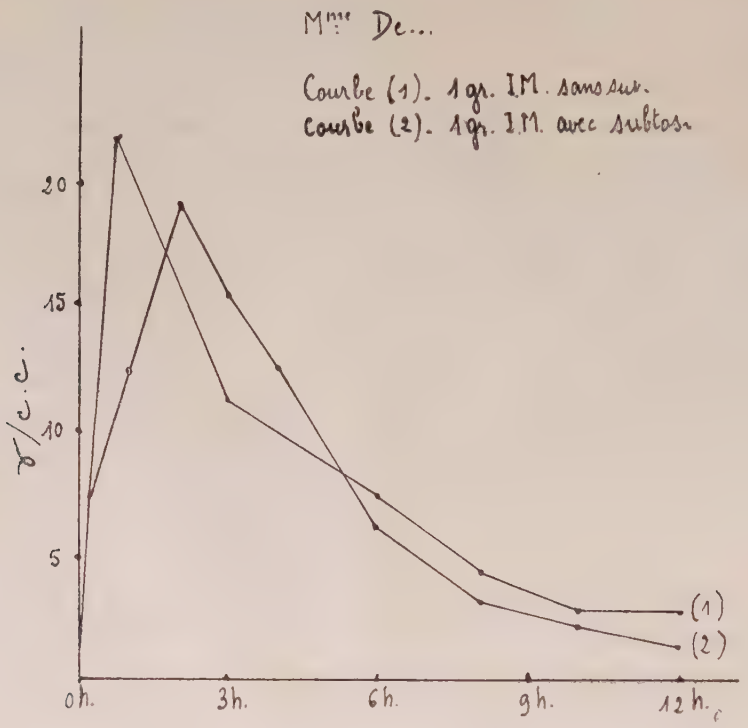
Désirant retarder l'absorption de la streptomycine et son élimination de l'organisme, nous avons utilisé comme solvant de la streptomycine le subtosan 25.

Pour les doses faibles de 166 milligrammes et 333 milligrammes, cette méthode ne présente guère d'avantages sur la méthode de dilution au sérum physiologique. Les courbes sont superposables.

Pour des doses de 500 mgr. et de 1 gr., l'association streptomycine-subtosan 25 se traduit par un léger écrasement de la courbe, le clocher antibiotique est moins élevé, l'élimination dans les premières heures plus lente. Cependant, par la suite, l'élimination se poursuit aussi rapidement que dans le cas de l'injection de la même dose de streptomycine dissoute dans le sérum.

Nous rapportons les courbes de Mme De..., obtenues après injections de 1 gr. de streptomycine dilué dans du subtosan et du sérum physiologique.

Ces courbes sont analogues, le clocher antibiotique est plus tardif et moins élevé avec le subtosan, l'élimination aussi rapide.



L'association subtosan 25 - streptomycine ne retarde pas l'élimination du produit.

Seule, comme nous l'avons constaté, l'injection unique d'une forte dose prolonge considérablement la durée de la concentration bactériostatique.

Si MM. Maral et A. Blandin (204) soutiennent que le subtosan 25 retarde l'élimination de la streptomycine, ils stipulent que cet effet retard n'est obtenu qu'avec de fortes doses, 500 mgr. ou un gramme, mais en réalité est dû, comme nous

venons de le voir, non pas au solvant, mais à la dose même de streptomycine utilisée.

Emploi du benzoate de soude

KOLMER, BONDI, WARNER et DIETZ (166)

L'administration per os de benzoate de soude, après une injection intra-musculaire de 250 à 500 mgr. de streptomycine, n'en ralentit pas l'excrétion urinaire et, par voie de conséquence, ne prolonge pas sa concentration sanguine.

CONCLUSIONS :

L'utilisation des divers véhicules retards employés pour la pénicilline paraît ne pas avoir d'intérêt dans la thérapeutique streptomycinée. A notre connaissance, il n'existe pas pour l'instant de préparations efficaces. L'effet retard ne peut être actuellement obtenu, comme nous l'avons démontré dans l'étude de la concentration sanguine de la streptomycine, que par l'administration de fortes doses.

Ces substances paraissent donc sans intérêt dans la streptomycino-thérapie, tout au plus retardent-elles légèrement l'apparition du clocher antibiotique et cet avantage minime ne compense pas la douleur, ni les difficultés de ces injections de produits visqueux durant plusieurs semaines.

II. - DIFFUSION DE LA STREPTOMYCINE DANS L'ORGANISME

Injectée par voie parentérale, la streptomycine diffuse dans les humeurs et s'accumule dans divers organes. Cette diffusion s'effectue dans le liquide céphalo-rachidien dans les exsudats pleuraux et péritonéaux, dans la bile, dans l'humeur aqueuse; elle se fait de la mère au fœtus à travers le filtre placentaire.

De sa concentration dans le sang dépend la diffusion dans l'organisme, donc l'effet thérapeutique ; tout reviendrait, d'après LEVADITI (180), à maintenir l'organisme et surtout le milieu sanguin sous une pression streptomycinique suffisamment élevée pour que l'action antibiotique puisse s'exercer.

Nous allons étudier, dans ce chapitre, la diffusion de la streptomycine dans les diverses humeurs de l'organisme et sa distribution dans les organes.

A. — *Diffusion de la streptomycine dans le liquide céphalo-rachidien*

Après administration parentérale, la streptomycine diffuse dans les principales humeurs de l'organisme. Cependant, la barrière hémo-méningée constitue un obstacle à la diffusion de la streptomycine du sang vers le L. C. R. ; cette barrière est plus facilement franchie si la méninge est altérée.

Depuis l'introduction de la streptomycine en thérapeutique, de nombreux auteurs ont constaté l'imperméabilité des méninges saines à la streptomycine. Heilman, Hinshaw, Nichols et Herrels (139) ne retrouvent pas d'antibiotique dans le L. C. R. des sujets non méningitiques soumis au traitement par voie générale ; mêmes constatations de Rammelkamp et Keefer (250), de Madigan (200-201), puis Smith, Vollum et Cairns (273), d'Etienne Bernard et coll. (22-23), Buggs et coll. (36).

Après injection intra-veineuse de 500.000 unités, Zintel ne retrouve que des traces d'antibiotique dans le L.C.R. Cependant, Zintel, Flippin, Nichols, Willey et Roads (307) indiquent des chiffres de 1 à 5 unités après injection parentérale de 1 à 3 gr. par jour.

Il en est tout autrement chez les malades porteurs d'une pie-mérite ; la streptomycine diffuse du sang dans le L.C.R., la perméabilité de la méninge à l'antibiotique est accrue.

Heilman et Hinshaw (139), dans leur étude très complète sur la diffusion de la streptomycine dans l'organisme, soulignent le fait, et, dosant la streptomycinémie et la streptomycinorachie par la méthode des cups en gélose ou des slides cells, trouvent la première cinq fois supérieure à la seconde.

Anderson et Jewel (8) confirment l'imperméabilité de la méninge à la streptomycine chez les sujets sains et la diffu-

sion de l'antibiotique dans le L.C.R. lorsqu'il existe inflammation de la séreuse.

Smith, Vollum et Cairns, Himsworth (273), pour des doses journalières de 2 gr. en six injections fractionnées et pour une moyenne de 20 dosages, trouvent des chiffres de streptomycinorachie de 2 à 8 unités.

Reiman, Elias et Price (253), chez un malade recevant journellement 4 gr. par voie intra-veineuse, trouvent 16 à 20 unités par cc. Buggs et ses collaborateurs (36) indiquent 13,2 et 41,6 unités pour des taux sanguins correspondant à 92,5 et 171 unités. Notons que ce dernier chiffre concerne un cas exceptionnel.

R. Debre (75-76), après 18 dosages, conclut au passage de l'antibiotique à travers la barrière hémo-méningée altérée et que la quantité diffusée n'est proportionnelle ni aux doses injectées, ni à la durée du traitement.

E. Bernard, Kreiss et Mme Grunbach (22-23), chez des malades traités uniquement par voie intra-musculaire, à raison de 1 à 2 gr. par jour en six injections fractionnées, obtiennent des concentrations rachidiennes moyennes de l'ordre de 12,8 unités par cc.

Bernard Sureau (283), par la méthode des dilutions fractionnées, dose 3 unités par cc. de L.C.R. tandis que Levaditi (178), chez des malades soumis au traitement de 2 gr. par voie parentérale, donne des chiffres particulièrement faibles puisque n'excédant pas 2 unités par cc. Ces chiffres sont d'ailleurs identiques à ceux donnés par Hinshaw, Nichols, Herrel (139) et à ceux de Adcock et Hettig (3).

Citons encore les travaux de Keefer, Blacke et Wood (153) qui concluent au passage irrégulier de la streptomycine du sang vers le L.C.R.

Enfin, les conclusions de Morin, Nehlil et Pichon (253), pour lesquels les taux rachidiens moyens, après injection intra-musculaire, se situent entre 2 unités et 4 unités.

RECHERCHES PERSONNELLES

Ces diverses observations, éparses dans la littérature, nous incitèrent à étudier la diffusion de la streptomycine dans le L.C.R.

Les notions d'imperméabilité de la méninge saine et de perméabilité de la méninge altérée nous ont conduit à rechercher si le dosage de la streptomycine dans le L.C.R. avait une valeur diagnostique et si des déductions thérapeutiques et pronostiques pouvaient être faites à partir des taux de concentration de l'antibiotique dans les espaces sous-arachnoïdiens.

A cet effet, nous avons dosé la streptomycinorachie chez des malades traités uniquement par voie intra-musculaire à raison de 2 grammes par jour en deux injections.

En avril 1949, M. le Professeur Damade, Dulong de Rosnay et nous-même (72) avons relaté l'intérêt diagnostic et thérapeutique de la perméabilité méningée, puis MM. Damade et Dulong de Rosnay soulignèrent l'intérêt et les déductions thérapeutiques de ce phénomène dans le traitement des méningites tuberculeuses (62).

Temps de diffusion à travers la barrière hémo-méningée

Nous avons systématiquement étudié, dans le temps, chez des malades atteints de méningite tuberculeuse, le passage de la streptomycine du sang vers le L.C.R. Les divers dosages pratiqués nous ont montré que les plus hautes concentrations étaient atteintes dans le L.C.R. deux heures à deux heures 1/2 après l'injection intra-musculaire de 1 gramme ; le clocher antibiotique rachidien étant légèrement retardé par rapport au clocher antibiotique sanguin.

On en déduit aisément la nécessité de pratiquer, dans l'épreuve de la perméabilité méningée, la ponction lombaire de prélèvement deux heures à deux heures trente après l'injection intra-musculaire de 1 gramme de streptomycine.

Par suite, le taux de la streptomycine baisse rapidement et se situe entre 0,50 et 1,50 unités aux environs de la 4e heure après l'injection.

D'où l'intérêt de pratiquer les injections lombaires quatre heures environ après l'injection intra-musculaire de l'antibiotique.

I. - VALEUR DIAGNOSTIQUE DE LA PERMEABILITE MENINGEE

Dans un premier temps, nous avons dosé l'antibiotique dans le L.C.R. de malades admis dans le service pour un syndrome méningé. Dans huit cas où le diagnostic de méningite tuberculeuse a été vérifié par l'évolution clinique et les examens ultérieurs, nous avons trouvé, de façon constante, une augmentation de la perméabilité de la méninge à la streptomycine dont les taux rachidiens oscillaient entre 2 et 16 gamma.

Méningites tuberculeuses	Taux de Strept. dans le L.C.R. gamma / cc	Méningites ourliennes	Taux de Strep . dans le L.C.R. gamma / cc
M. Dup.	2,5	Mme La.	0
M. Be.	2,5		
Mme Chai.	2,5	Mme Bel.	0
Mme Chau. ..	3,54		
M. Ca.	4,37		
Mme Du.	11		
Mlle A.	11,66		
Mme D.	16,38		

Par contre, le L.C.R. de malades atteints de méningite ourlienne et soumis à des injections intra-musculaires de streptomycine dans le but d'étudier la perméabilité de leurs méninges à l'antibiotique, ne renfermait pas de produit.

Ces constatations nous amenèrent à doser l'antibiotique dans le L.C.R. de malades traités uniquement par voie intra-musculaires pour une localisation tuberculeuse quelconque (granulie, tuberculose rénale, pulmonaire) et qui présen-

taient au cours du traitement des symptômes cliniques (vomissements, céphalées, convulsions, parfois syndrome méningé complet) évoquant la méningite tuberculeuse.

Dans les cas où l'évolution de la maladie (6 cas) a infirmé le diagnostic clinique de méningite tuberculeuse, nous n'avons pas trouvé de streptomycine dans le L.C.R. ou de faibles traces — toujours moins de 1 gamma.

Par contre, dans les cas où l'évolution de la maladie, les examens cytobactériologiques et chimiques ont confirmé le diagnostic de pie mérite tuberculeuse, nous avons trouvé, de façon constante, une augmentation de la perméabilité de la méninge à la streptomycine dont les taux rachidiens restaient supérieurs à 2 gamma par cc.

Malades qui ont développé une méningite tuberculeuse	Diagnostic	Taux de Strepto. gamma / cc
M. Bo.	granulie	2,50
M. Ma.	granulie	2,50
M. Des.	granulie	2,50
Mme Ch.	tuberc. réna.	2,50
M. La.	granulie	3,54
M. Cho.	granulie	3,95
Mme Du.	granulie	3,95
M. Car.	tuberc. pulm.	4,37
Mme Go.	tuberc. pulm.	18
Malades n'ayant pas eu de méningite tuberculeuse		
Mlle La.	primo inf.	traces
M. Loi.	tuberc. pulm.	traces
Mme Du.	tuberc. réna.	traces
M. Bar.	granulie	traces
M. Pla.	granulie	0,65
M. Sal.	tuberc. pulm.	0,81

Une de nos observations est particulièrement intéressante : elle concerne Mlle La..., qui présentait une méningite séreuse; nous avons pu, nous basant sur les résultats des dosages révélant l'absence de streptomycine dans le L.C.R., éliminer le diagnostic de pie mérite bacillaire, malgré l'hypertension et une légère réaction cytologique du L.C.R.

Ce test permet, à notre avis, de distinguer une méningite tuberculeuse d'une simple réaction méningée chez un malade traité à la streptomycine par voie intra-musculaire ; il n'est point spécifique de l'atteinte tuberculeuse, mais dénote une altération profonde de la méninge.

L'intérêt de l'étude des modifications de la perméabilité méningée nous paraît grand, car ces modifications sont extrêmement précoces et déjà présentes à la phase pré-clinique de la méningite tuberculeuse.

L'observation de Mme Du... nous a confirmé la valeur de ce test qui, dans son cas, a permis de faire le diagnostic précoce d'une rechute. Traitée dans le service pour méningite tuberculeuse et stabilisée, cette malade revint 9 mois après l'arrêt du traitement pour un syndrome typhoïde ; il n'existait aucun signe méningé, ni de réactions cytologiques ou de modifications chimiques du L.C.R. L'épreuve de la perméabilité méningée fut positive, le taux de la streptomycine rachidienne atteignant 11 gamma. L'évolution du tableau clinique, les examens cytologiques et chimiques ultérieurs du L.C.R. confirmèrent le diagnostic de rechute de méningite que l'épreuve de la perméabilité méningée faisait suspecter depuis une quinzaine de jours.

L'altération de la méninge par un processus infectieux se traduit par une augmentation de la perméabilité de cette séreuse à la streptomycine. La perméabilité redevient normale lorsque la méningite peut être considérée comme guérie ; nous n'avons trouvé que des traces d'antibiotique chez des méningitiques cliniquement et biologiquement guéris.

On conçoit, dès lors, l'intérêt de l'étude de la perméabilité méningée à la streptomycine, dont la présence ou l'absence

dans le L.C.R. élimine le diagnostic de pie mérite bacillaire. Ces modifications, parfois précoces, de la perméabilité permettent le diagnostic à la phase pré-clinique ; leur étude présente un intérêt capital chez les malades traités par la streptomycine par voie intra-musculaire pour une localisation tuberculeuse quelconque, qui présentent des signes invoquant la méningite tuberculeuse pour discriminer chez eux un ensemencement méningé d'une méningite séreuse, d'accidents neuro-toxiques.

Ce test s'est montré utile dans le diagnostic d'une rechute, où il fut positif à la phase pré-clinique.

II. — INTERET THERAPEUTIQUE DE LA PERMEABILITE MENINGEE

A. — Concentrations rachidiennes et perméabilité

Dans le chapitre précédent, nous avons vu que la streptomycine diffuse du sang vers le L.C.R. à la faveur d'une altération de la méninge par un processus infectieux.

Nous avons rapporté les concentrations rachidiennes obtenues après administration intra-musculaire ; elles oscillent entre 2,50 gamma et 11 gamma par cc., atteignant 16 et 18 gamma dans deux cas, enfin 70 gamma dans un cas exceptionnel que nous relaterons plus loin. En général, les taux rachidiens se situent entre 4 et 8 gamma de streptomycine par cc. Ces chiffres représentent les concentrations maxima obtenues vers la deuxième heure qui suit l'injection. Par la suite, le taux rachidien tombe rapidement puisque vers la quatrième heure il ne subsiste guère que 1 gamma à 1,50 gamma de streptomycine par cc. Ces taux paraissent bien trop faibles et éphémères pour entraîner un effet thérapeutique.

Ces constatations biologiques sont vérifiées par deux ordres de faits cliniques :

— les ensemencements méningés au cours des miliaires traitées par la streptomycine ;

— les échecs de cette thérapeutique par la seule voie intramusculaire.

a) *Les ensemencements méningés au cours des miliaires traités par la streptomycine :*

Nous avons observé, dans le service de M. le Professeur Damade, l'apparition de méningites tuberculeuses au cours de 8 cas de miliaires pulmonaires, de 2 cas de tuberculoses pulmonaires excavées et d'un cas de tuberculose rénale.

Ces malades, traités depuis plusieurs semaines par la streptomycine à raison de 2 grammes par jour, en 2, 6 ou 8 injections fractionnées, réagissaient favorablement à l'antibiotique ; les concentrations dans le sang étaient satisfaisantes et les clichés s'amélioraient. Tous ces signes favorables n'empêchèrent pas la complication méningée.

On conçoit aisément que si la streptomycine ne protège pas les méninges, on peut penser qu'elle sera incapable, dans bien des cas, malgré l'augmentation de la perméabilité méningée, d'empêcher l'éclosion d'une pie mérite tuberculeuse.

b) *Les échecs de la thérapeutique streptomycinée par la voie intra-musculaire dans les méningites tuberculeuses :*

Les résultats déplorables de la thérapeutique streptomycinée appliquée par la seule voie intra-musculaire dans les méningites tuberculeuses apportent une nouvelle confirmation de l'insuffisance des taux rachidiens de streptomycine diffusée à travers la méninge.

M. le Professeur Damade (61) rapporte que, d'avril à décembre 1947, les onze premiers cas de méningites tuberculeuses traitées uniquement par voie intra-musculaire à raison de 2 grammes par jour en injections fractionnées, sont morts deux à trois mois après le début du traitement, excepté l'un d'eux qui connut une amélioration de quatre mois. D'ailleurs, les publications diverses s'accordent à reconnaître l'insuffisance des concentrations rachidiennes obtenues après injection intra-musculaire.

La diffusion de la streptomycine dans le L.C.R. apporte dans les espaces sous-arachnoïdiens des quantités trop faibles d'antibiotique, la clinique le démontre, les dosages le prouvent.

L'étude de la diffusion de l'antibiotique présente donc un intérêt thérapeutique puisqu'elle démontre la nécessité absolue d'associer dans le traitement des méningites tuberculeuses la voie rachidienne à la voie intra-musculaire.

B. — Variations de la perméabilité au cours de l'évolution de la méningite

L'étude de la perméabilité au cours de l'évolution de la méningite tuberculeuse présente un intérêt considérable, puisqu'elle permet de modifier les doses et le rythme des injections rachidiennes dont nous venons de démontrer l'absolue nécessité.

La perméabilité de la méninge est due à l'altération de la séreuse par le processus infectieux ; on peut donc penser que ses modifications resteront parallèles à l'évolution de la maladie.

Nous avons pu, dans le service de M. le Professeur Damade, étudier la diffusion de la streptomycine dans le L.C.R. à la phase préclinique de la méningite, chez des sujets traités pour granulie ou d'autres localisations tuberculeuses, chez lesquels se développait une méningite. A cette période de début, les taux rachidiens sont faibles, oscillant entre 2 gamma et 2,5 gamma par cc.

Puis, alors que le tableau clinique se précise, la perméabilité augmente et va demeurer stationnaire durant quelques semaines pour redescendre lentement.

Le tableau suivant met en valeur l'élévation progressive des taux rachidiens, puis leur stabilisation et enfin la lente involution :

M. Mat.		Mme Po.		M. De.		Mme Du.	
dates	gam./cc	dates	gam./cc	dates	gam./cc	dates	gam./cc
10-10-48	2,50	7-1-48	11	4-1-48	2,50	15-5-48	2,50
20-10-48	6,25	16-2-48	6,25	19-2-48	3,54	17-5-48	2,50
18-11-48	11	19-2-48	6,25	30-3-48	11	4-6-48	14,66
20-12-48	3,54	5-3-48	11	26-4-48	7,75		
23-12-48	1,93	15-3-48	18,57				
19-1-49	1,33						

Chez un de nos malades, M. Po..., nous avons noté, après l'arrêt du traitement intra-rachidien, des concentrations régulièrement décroissantes. Les derniers dosages témoignent de l'imperméabilité normale de la méninge :

le 19-4-48	.....	3,22 gamma
le 25-4-48	.....	1,12 »
le 5-5-48	.....	0,82 »

Chez un autre sujet, sept mois après l'arrêt du traitement, le dosage ne permettait pas de déceler de streptomycine dans le L.C.R.

Déductions thérapeutiques :

Il importe d'obtenir une concentration élevée de streptomycine dans le L.C.R. Les injections intra-musculaires sont incapables à elles seules de maintenir une concentration bactériostatique suffisante, il faut associer aux injections intra-musculaires, traitement de base, des injections intra-rachidiennes, traitement d'appoint.

Les variations de la perméabilité méningée, au cours du traitement, ont conduit M. le Professeur Damade et le Docteur Dulong de Rosnay (62) à multiplier les injections intra-rachidiennes durant les périodes où la perméabilité est faible. Au début, ce sera le traitement d'attaque fait d'injections intra-rachidiennes quotidiennes de 100 mgr., durant une quinzaine; lorsque la perméabilité méningée diminue, ce sera le traitement de consolidation.

Dans l'intervalle, les malades reçoivent tous les 2 ou 3 jours, suivant leur tolérance, l'état clinique, 100 à 200 mgr. par voie intra-rachidienne.

L'étude de la perméabilité au cours du traitement d'une méningite présente donc un intérêt thérapeutique considérable.

III. — Intérêt pronostique de la perméabilité meningee

A la suite des auteurs anglo-saxons, nous avons signalé, avec M. le Professeur Damade (72), que l'élévation brusque du taux de la streptomycine rachidienne est de mauvais augure. Nous

assistâmes, pour l'une de nos malades, Mme Du..., à une augmentation rapide de la perméabilité ; les taux rachidiens montèrent en quelques jours de 11 gamma à 70 gamma par cc., alors que s'installait le tableau clinique d'une encéphalite.

En règle générale, les malades les plus gravement atteints concentrent fortement la streptomycine rachidienne. M. Vi..., qui gardait une concentration élevée durant un mois, de l'ordre de 16 à 18 gamma par cc., mourut malgré la thérapeutique. Même évolution pour M. Le..., dont la streptomycinorachie oscillait entre 11 et 20 gamma, et pour Mme Gi..., dont le taux rachidien dépassait 56 gamma.

Le malade Ga..., qui présentait une encéphalite, avait une streptomycinorachie de l'ordre de 18,5 à 25 gamma.

La constatation de fortes concentrations rachidiennes nous semble en rapport avec la gravité de l'altération de la méninge et le pronostic, dans ce cas, nous paraît redoutable.

Une méningite tuberculeuse peut être considérée comme jugulée quand la méninge a retrouvé son imperméabilité normale. La streptomycine n'était plus dosable dans le L.C.R. de M. Po... quelques semaines après l'arrêt du traitement. Pour M. Mat..., on trouvait 1,33 gamma par cc. quelques jours après l'arrêt du traitement.

Les malades qui quittèrent le service avec une perméabilité anormale firent, pour la plupart, des rechutes.

NOMS	Gam./cc.	Chlorures	Albumines	Lymphocytes
M. La.	3,54	7,3	1	9
M. Mat.	8,12	7,9	0,5	6
Mme P.	18,57	7,4	0,5	2
Mme Du. ..	14,66	—	—	—
Mlle Bon. ..	9,05	7,2	1,2	15
Mme S.	6,25	—	—	—

Ces malades, après six mois de traitement, présentaient pourtant une amélioration clinique et biologique telle que le traitement était arrêté ; seule la perméabilité anormale nous

faisait redouter la possibilité de rechutes qui se produisirent deux à six mois après l'arrêt de la thérapeutique.

Le retour à la perméabilité normale de la méninge est un élément capital du pronostic et la constatation d'une perméabilité anormale en fin de traitement devra faire redouter la rechute.

En conclusion, l'étude de la perméabilité à la streptomycine présente un triple intérêt : diagnostique, pronostique, thérapeutique.

IV. — Les injections par voie sous-arachnoidienne

Les concentrations rachidiennes insuffisantes ont conduit les thérapeutes à l'administration sous-arachnoïdienne de la streptomycine et à la notion de traitement prolongé dont les résultats cliniques ont confirmé toute la valeur.

L'utilisation de cette voie permet d'atteindre de très fortes concentrations dans les espaces sous-arachnoïdiens.

Une heure à trois heures après l'injection de 100 mgr., Smith, Vollum et Cairns (273) dosent 700 à 2.000 gamma par cc. de L.C.R.

Bernard E., Kreiss et Sureau (23) ne retrouvent plus que 30 gamma, 6 heures après l'injection d'une dose identique.

Pour Maral et Blandin, 8 heures après l'injection de 25 mgr., la concentration rachidienne est de l'ordre de 24 gamma et de 12 gamma pour une injection de 10 mgr. Dubois et Linz (83) les situent entre 32 et 256 gamma par cc. pour une dose de 100 mgr.

A la dixième heure, Heilman, Hinshaw, Nichols et Herrel (139) dosent 30 gamma pour une injection de 100 mgr. et 6 gamma seulement pour une injection de 50 mgr., et à la seizième heure, pour Dubois et Linz (83), il subsiste, avec une dose de 100 mgr., 16 et 48 gamma.

A la 17e heure, Bernard et ses collaborateurs (23), après une injection de 200 mgr., retrouvent 25 gamma par cc.

A la 24e heure, il persiste 2 à 16 gamma de streptomycine par cc. de liquide céphalo-rachidien.

De hautes concentrations sont obtenues dans les ventricules : 500 gamma par cc., 4 heures après l'injection intra-rachidienne de 100 mgr., tandis qu'une ponction cisternale, faite 10 minutes après l'injection de 50 mgr., par voie lombaire, montrait une concentration de 1.200 gamma par cc. de L.C.R. (*Medical research council britannique*).

Cette étude montre que les injections intra-rachidiennes permettent d'obtenir dans les espaces sous-arachnoïdiens des concentrations élevées et durables ; et aux fortes concentrations, la streptomycine aurait un effet bactéricide dont l'action n'est pas négligeable dans le traitement d'un processus méningé infectieux.

Doses injectées :

Les doses injectées par voie sous-arachnoïdienne varient suivant les auteurs : 10, 25, 50, 100 et 200 mgr. sont les doses le plus couramment employées avec des modifications dans le rythme suivant le degré de la pie mérite, son stade d'évolution et la tolérance de l'organisme.

Dans le service de M. le professeur Damade, les malades sont soumis à des injections de 200 milligrammes tous les deux ou trois jours, selon la tolérance et les concentrations rachidiennes de chacun. Ces doses sont ramenées à 100 milligrammes pendant les traitements d'attaque et de consolidation.

L'association des injections intra-musculaires et intra-rachidiennes donne des concentrations plus élevées que les injections intra-rachidiennes seules.

D'après M. Bernard et ses collaborateurs (23), les concentrations rachidiennes obtenues par cette méthode seraient au moins trois fois supérieures à celles obtenues par les injections intra-rachidiennes seules.

Actuellement, on admet généralement la méthode d'association des deux voies intra-musculaire et intra-rachidienne dans le traitement des méningites. Démontrée par l'étude des concentrations biologiques, cette méthode est vérifiée par l'expérience clinique. Il suffit de se rapporter aux diverses

statistiques pour voir les échecs dus au traitement par voie intra-musculaire seule et l'amélioration des statistiques par l'emploi de la méthode combinée.

Nous avons pratiqué 250 dosages environ de streptomycinorachie chez des malades atteints de méningite tuberculeuse hospitalisés au Centre de Bordeaux. Ces malades sont traités, comme nous l'avons indiqué plus haut, par voies intramusculaire et lombaire combinées. Les taux représentent les concentrations minima du L.C.R., c'est-à-dire la concentration en streptomycine dans le L.C.R. avant la nouvelle injection. Les malades ont reçu, 24 heures auparavant, 100 mgr. intrarachidiens, ou 48 heures avant, 200 mgr. et sont soumis à deux injections quotidiennes intra-musculaires de 1 gr. toutes les 12 heures.

Dans 25 cas, soit 12,5 %, nous retrouvons une concentration inférieure ou égale à 2,5 gamma.

38 dosages montrent des taux entre 2,50 et 5 gamma par cc.

Dans 60 cas, les taux de streptomycine rachidiens oscillaient entre 5 et 10 gamma, les autres dosages révélant des concentrations de l'ordre de 10 à 20 gamma par cc. Nous avons trouvé 40 à 70 gamma chez des malades faisant une rechute.

Ces concentrations demeurent bactériostatiques, comme nous le verrons plus loin, pour un B.K. sensible à la streptomycine et justifient, au point de vue biologique, notre posologie et le rythme des injections.

Nous avons remarqué que les concentrations observées dans les prélèvements du liquide intra-ventriculaire ou sous-occipital étaient habituellement moins élevées que les concentrations observées dans le liquide prélevé par voie basse.

Nous avons été ainsi conduits à employer de plus en plus la voie cisternale.

Ces divers dosages montrent que l'association à la voie intramusculaire de la voie rachidienne apporte dans le L.C.R. des

quantités d'antibiotique suffisantes pour que la concentration de ce milieu reste bactériostatique. Les fortes concentrations obtenues après les injections intra-rachidiennes y ajoutent un effet bactériolytique.

Par cette méthode, le taux de streptomycinorachie est la somme de la streptomycine injectée par voie lombaire et de la streptomycine diffusée à travers la barrière hémo-méningée.

Liquide issu de ponctions cisternales	Taux en gamma / cc
M. Le. (14 mai 1949)	11
» (11 juin 1949)	3,54
Mlle Ar. (1er juin 1949)	6,25
M. Gal. (10 juin 1949)	3,54
» (30 juin 1949)	11
M. Gau. (11 juin 1949)	21,42
M. Se. (11 juin 1949)	21,42
» (30 juin 1949)	3,54
» (6 juillet 1949)	3,54

L.C.R. issu de ponctions ventriculaires	Taux en gamma / cc
Mme C. (18 mai 1948)	6,94
Mme P. (4 juin 1948)	1,04

Cette méthode ne présente guère d'inconvénients ; la fréquence des accidents toxiques n'est pas supérieure à celle obtenue par la seule voie intra-musculaire. L'expérience clinique confirme ces données biologiques et les statistiques montrent

que, seule, l'association de la voie intra-musculaire et intra-rachidienne, dans la thérapeutique d'un processus infectieux méningé par la streptomycine, est la méthode la plus susceptible d'en obtenir la guérison.

Les accidents toxiques :

Les accidents sont d'abord ceux observés au cours de toute streptomycinothérapie : vertiges, vomissements, trouble de l'équilibre avec inexcitabilité du labyrinthe, ne nous ont pas paru plus fréquents, plus graves, plus prolongés, dans le traitement des méningites, que dans celui des miliaires pulmonaires.

MM. le Professeur Damade, Dulong de Rosnay et Labadie (65), dès juillet 1948, ont attiré l'attention sur l'action efficace du phénergan sur ces accidents.

Nous n'avons observé que deux cas de surdité chez nos méningitiques et aucun cas chez nos autres malades. Deux cas également de névrite optique, mais dont le début avait précédé l'institution du traitement.

MM. le Professeur Damade, Dulong de Rosnay et Dubreuil (67), dès mars 1949, ont rapporté dix cas d'accidents neurotoxiques aigus dus à la streptomycine ; six concernaient des bacillaires sans pie mérite ; ils étaient dus à l'antibiotique et non à la localisation méningée. Depuis l'emploi systématique du calcium et le dosage fréquent du taux de la streptomycine dans le sang et dans le L.C.R., nous n'avons plus observé ces accidents.

Remarque :

La diffusion de la streptomycine dans le L.C.R. n'est qu'un cas particulier de la perméabilité des séreuses. Nous avons également essayé une substance à grosse molécule: le polyvinylpyrrolidone; la recherche de ce corps dans le L.C.R. par la réaction à l'iode n'a pu mettre en évidence des quantités dosables (69).

Dans une deuxième série d'expériences, à la suite des travaux de Flateau, Mollaret et Feroir, nous avons employé

la fuchsine S à 5 % à raison de 5 cc. intra-veineux. La fuchsine passe dans le L.C.R. à l'état de leuco-dérivé incolore que l'on peut mettre en évidence par action de l'alcool chlorhydrique au 10e. Chez les malades atteints de méningite tuberculeuse, la réaction a été constamment positive, son intensité suivant assez fidèlement l'état clinique et la perméabilité à la streptomycine. Chez un sujet considéré comme guéri, M. Po..., l'épreuve a été négative.

B. — *Diffusion de la streptomycine dans les autres humeurs de l'organisme*

1° Liquide pleural :

La streptomycine diffuse lentement dans les exsudats pleuraux puisque 15 minutes après injection intra-veineuse de 600 mgr., Zintel et ses collaborateurs (307) ne retrouvent pas trace de l'antibiotique et deux heures après l'injection trouvent des concentrations de l'ordre de 6 gamma.

Buggs, Pilling, Bronstein et Hirshfeld (36) rapportent des taux plus bas : 1 gamma par cc. de pus, dans trois cas d'empyème pulmonaire, trois heures après administration de 500 milligrammes ; dans deux cas de pleurésies séro-fibrineuses, la concentration oscillait, pour les mêmes doses, au bout de trois heures, entre 2,5 et 3 gamma par cc.

Zintel, 24 heures après l'administration de 1,25 gr., dose 15 à 20 gamma par cc.

Nous trouvons, pour des doses de 500 mgr. à 1 gr. injectées par voie intra-musculaire, chez des malades atteints de pleurésie séro-fibrineuse, des chiffres identiques, de l'ordre de 2 gamma à 2,5 gamma par cc., deux heures et demie à trois heures après l'injection, alors que le taux sanguin oscille entre 20 et 40 gamma par cc.

2° Liquide péritonéal :

Buggs et collaborateurs (36) dosent la streptomycine dans l'exsudat péritonéal de quatre malades ayant une péritonite à la suite d'une perforation d'ulcère ; une heure et demie en-

viron après l'injection de 500 mgr., ils retrouvent des concentrations de 15 à 22 gamma par cc., chiffres voisins des taux sanguins.

Chez cinq malades présentant une ascite cirrhotique, et recevant 400 mgr. à 1 gr. en injection intra-musculaire, le taux de streptomycine dans l'exsudat péritonéal oscille entre 3,5 et 28 gamma par cc., les concentrations les plus faibles coïncident avec les ascites les plus abondantes.

Zintel, Flipping et collaborateurs (307) constatent l'apparition de la streptomycine dans le liquide d'ascite une 1/2 heure après injection intra-musculaire de 600 mgr., 24 heures après l'injection, les concentrations sanguines et les taux péritonéaux auraient tendance à s'équilibrer.

3° Milieux de l'œil :

Léopold et Nichols (176) ont montré sur le lapin que la streptomycine, après injection parentérale de 10.000 gamma par kilo de poids, diffuse dans les milieux oculaires ; ils la décèlent au niveau de la conjonctive, de la sclérotique, de l'humeur aqueuse. Pour des doses dix fois plus fortes, la streptomycine est retrouvée dans la cornée, l'humeur vitrée, le tissu choriorétinien et le nerf optique.

Ces auteurs démontrent, en outre, que la streptomycine, appliquée sur la conjonctive, ne pénètre la cornée que si celle-ci est érodée ou enflammée par une inoculation vaccinale.

Après instillation d'une goutte de la solution titrant 50.000 gamma par cc., ils dosent 14 à 21 gamma par cc. d'humeur aqueuse.

Bellows et Farmer (14 et 15), irritant la cornée, trouvent, 30 à 60 minutes après un bain oculaire dans une solution titrant 10.000 gamma par cc, 25 à 200 gamma par cc. d'humeur aqueuse.

Ces mêmes auteurs, après injection intra-veineuse de 100.000 gamma de streptomycine, dosent, 24 heures après, 12 à 25 gamma par cc. d'antibiotique dans l'humeur vitrée.

Zintel et collaborateurs (307) ont retrouvé chez un malade atteint de glaucome 2 gam. par cc. d'humeur aqueuse, 30 minutes après injections de 600.000 gamma, le taux sanguin, à ce moment, était de 400 gamma par cc.

4° Sang fœtal et liquide amniotique :

La streptomycine se transmet de la mère au fœtus, ainsi qu'il en résulte des recherches de Woltz et Wiley (297) qui, 19 minutes après l'injection intra-veineuse de 250 mgr., décèlent l'antibiotique dans le cordon.

Ces auteurs estiment que la concentration dans le liquide amniotique et le sang fœtal est en général moitié moindre que dans le sang maternel. Au bout de trois heures, ils ne retrouvent que des traces du produit.

Zintel et collaborateurs (307), pour des doses identiques, retrouvent 9 gamma par cc. dans le sang du cordon, 7 dans le liquide amniotique, alors que le sang maternel titre 8 gamma par cc. deux heures après l'injection.

Heilman et collaborateurs (139), après injection unique sous-cutanée de 100 mgr., dosent dans le sang ombilical 1,56 gamma par cc. à la 90e minute, 3 gamma par cc. au bout de 2 h. 30 pour des taux sanguins maternels de 6 à 3 gamma par cc.

Ces concentrations passent à 12,5 gamma et 6 gamma après 8 injections de la même dose.

Nous avons dosé, chez des malades recevant 500 mgr. et 1 gr. par voie intra-musculaire, la streptomycine dans le sang du cordon :

3 heures environ après l'injection, nous retrouvons 1,93 gamma à 2,50 gamma par cc. d'antibiotique, 6,25 gamma dans un cas.

La streptomycine passe donc dans le sang fœtal, mais la concentration obtenue est beaucoup moindre que dans le sang de la mère.

C. — *Distribution de la streptomycine dans les tissus*

L'antibiotique s'accumule dans les organes après injection parentérale, ainsi qu'il en résulte des travaux de Kornegay, Forgacs et Henley (170) qui en décèlent dans le foie et la rate, ceux de Adcock et Hettig (3), ceux de Baggenstoss, Feldman et Hinshaw (9).

Tissu ou humeur organique	Cas 1 de Adcock et Hettig	Cas 2 de Adcock et Hettig	cas de Baggens toss, Feldman Hinshaw
Sérum post-mortem...	12	43	120
Rein	20	95	172,80
Urine	Non déterminé	Non déterminé	3.507
Foie	0	Traces	16,9
Bile vésiculaire	21	Non déterminé	Non déterminé
Rate	Non déterminé	Non déterminé	20,6
Poumon	6	6	42
Muscle cardiaque ..	1	5	Non déterminé
Cerveau	0	Traces	0
L.C.R.	Non déterminé	Non déterminé	15,8

Ces chiffres montrent la prédominance du taux de streptomycine dans le foie, le rein, le poumon et son absence dans le cerveau. Pulasky et Sprinz (248) donnent des chiffres analogues et le décèlent dans le corps thyroïde. Par contre, ces auteurs n'en retrouvent pas trace dans les ganglions lymphatiques, dans les testicules, le cerveau et le parenchyme pulmonaire. Des traces sont décelables dans le pancréas et la prostate. Les foyers enkystés ne sont pas pénétrés par l'antibiotique.

Telles sont les données fondamentales sur la traversée de l'organisme par la streptomycine. Sur elles sont basés son mode d'emploi, que nous avons souligné au cours des chapitres précédents, et ses possibilités thérapeutiques.

IV. — Elimination de la streptomycine

A. — *Elimination dans l'urine*

La majeure partie de la streptomycine injectée par voie parentérale s'élimine dans l'urine. Cette élimination s'effectue généralement à un rythme rapide, ce qui explique l'appauvrissement également rapide du sang en antibiotique.

Le taux de l'élimination et la rapidité de celle-ci obéissent à divers facteurs, parmi lesquels l'état de l'émonctoire rénal joue un grand rôle.

Les variations de concentration constatées dans l'urine correspondent, en général, à des fluctuations en sens inverse de la concentration du médicament dans le sang.

A de faibles éliminations urinaires correspondent de fortes concentrations sanguines, alors qu'un taux sanguin faible coïncide avec une élimination urinaire rapide et élevée.

On voit immédiatement l'intérêt de l'étude de l'élimination urinaire de la streptomycine, étude qui permet de préciser la vitesse d'élimination du produit ou sa rétention dans le sang et de corriger, s'il y a lieu, les doses injectées.

Méthode utilisée pour nos dosages :

Nous avons dosé, chez nos malades, l'élimination globale journalière de la streptomycine. Nous avons eu recours aux méthodes biologiques, les méthodes par diffusion en gélose nous paraissent les plus sensibles, et aux méthodes chimiques de dosages, en particulier à la méthode utilisant le groupement streptobiosamine.

a) *Méthode chimique :* Rappelons-en brièvement le principe : La streptobiosamine renferme un saccharide, la méthylglucosamine qui, à chaud, en milieu alcalin, par action d'acétyl acétone, se transforme en dérivés pyrrole donnant, avec le réactif d'Erlich, une coloration rouge plus ou moins intense selon la quantité de streptomycine. On mesure au photomètre l'intensité de la coloration qui est proportionnelle à celle d'un étalon testé à l'avance.

Un calcul rapide donne le titre recherché.

b) *Méthodes biologiques.* Méthodes par dilution : On peut également titrer par la méthode des dilutions la streptomycine urinaire, mais la nécessité d'opérer sur un milieu stérile oblige à des filtrations sur bougies, ce qui entraîne des pertes d'antibiotique. De plus, les dilutions successives et considérables augmentent les causes d'erreurs.

Comparaison avec les méthodes chimiques : Nous avons effectivement trouvé des chiffres plus forts en utilisant la méthode chimique. Pour Mme Ar.... nous dosons 412 gamma par cc. par la méthode biologique et 420 gamma par cc. par la méthode chimique.

D'autre part, sur une urine recueillie aseptiquement, nous avons dosé, par la méthode chimique, la streptomycine après défécation et sur la même urine non déféquée. L'urine déféquée renfermait 412 gamma par cc, tandis que l'urine non déféquée en contenait 454.

Ces faits démontrent que les diverses manipulations et filtrations de l'urine entraînent une perte d'antibiotique, donc une cause d'erreur appréciable.

Les méthodes chimiques permettent un dosage approximatif ; de plus, les réactions utilisées, nous l'avons vu, ne sont pas spécifiques.

Les méthodes par diffusion, et en particulier la méthode des cups en gélose, qui ne réclament point une asepsie rigoureuse, constituent des méthodes de choix pour le dosage de la streptomycine urinaire. Elles ne demandent point de manipulations préalables, filtration, dilution, défécation qui entraînent une perte d'antibiotique augmentant les causes d'erreurs.

De plus, on compare directement les cercles d'inhibition du produit à tester et ceux obtenus à l'aide de dilutions de streptomycine de titre connu.

Nous avons pu déterminer la précision de la méthode qui serait de 15 % en comparant les cercles d'inhibition d'un étalon et d'une urine de titre identique.

1) *Vitesse de l'élimination de la streptomycine*

L'étude de l'élimination en fonction du temps après l'injection ne présente qu'un faible intérêt. Ce rythme est rapide puisque Adcock et Hettig (3) constatent que 20 à 35 % de la quantité totale injectée sont éliminés au bout de deux heures et 50 à 70 % au bout de douze heures.

Anderson et Jewell (8), après 200.000 unités intra-musculaires, retrouvent dans l'urine 33 % de la dose injectée au bout de l'heure et 63 % deux heures après l'injection.

Pour 300.000 unités, ces auteurs retrouvent 30 % de la dose injectée dans la première heure, 15 % seulement dans la deuxième et 20 % dans les sept heures suivantes.

Pour 600.000 unités, ces auteurs retrouvent 39 % de la dose injectée dans la première heure, 16 % dans la deuxième et 32 % dans les sept heures suivantes.

2) *Taux de concentration*

Eliminé en majeure partie par l'urine, l'antibiotique s'y trouve à des concentrations considérables s'il est injecté aux doses thérapeutiques et en l'absence de déficit rénal :

434 gamma par cc. chez un malade de Heilman recevant 400.000 unités toutes les trois heures ;

1.330 gamma par cc. chez un malade de Helmolz (140) recevant les mêmes doses ;

Reiman, Price, Elias rapportent des taux variant de 150 à 2.800 gamma par cc. chez des malades ayant reçu des doses variant de 1 à 5 gr. par jour.

Zintel retrouve 520 gamma par cc. après une injection de 600.000 unités.

Anderson et Jewell donnent des concentrations variant de 150 à 1.200 gamma par cc. pour des doses de 200 à 600 mgr.

Pulasky (247) retrouve des chiffres moindres puisque pour 400.000 unités toutes les 4 heures, il dose dans un cas 64 gamma par cc., 73 gamma par cc. dans un autre, alors que la plus haute concentration qu'il observe, pour ces mêmes doses, atteint 4.096 gamma par cc.

Les taux urinaires que nous avons trouvés pour une même dose injectée varient considérablement. Les concentrations urinaires de nos malades oscillent entre 246 gamma par cc. et 1.146 gamma par cc. pour des doses de 333 mgr. à 1 gramme.

Pour une injection de 333 milligrammes, les taux urinaires moyens sont de l'ordre de 250 mgr. par cc., alors que pour 1 gramme, elles atteignent et dépassent 1.000 gamma par cc. La concentration de l'antibiotique dans l'urine est grossièrement fonction de la dose thérapeutique utilisée.

Le facteur excrétion urinaire, facteur de dilution, intervient pour une bonne part dans la concentration antibiotique de l'urine. Il est évident qu'en réduisant la diurèse par une diminution de l'ingestion des liquides, on obtient une concentration urinaire plus élevée, remarque mise à profit par Pulasky (247) sur des infectés urinaires traités par la streptomycine.

3) *Elimination globale journalière*
Coefficient d'élimination

L'élimination globale journalière se calcule en faisant le produit de la concentration moyenne par cc. de l'urine en antibiotique par le volume de la diurèse durant ces 24 heures.

Le rapport de la streptomycine éliminée à la streptomycine injectée définit le coefficient d'élimination urinaire. Ce coefficient d'élimination oscille entre 30 et 80 %. Toutefois, quelques études montrent de grandes variations :

Anderson et Jewell (8) le situent entre 46 et 75 % ;

Adcock et Hettig (3) entre 50 et 70 % ;

Selon Elias et Durso (90) qui, il est vrai, expérimentent avec des doses beaucoup plus élevées, qui favorisent la durée de l'élimination, 75 % du produit sont éliminés par cette voie en 24 heures et l'élimination urinaire intégrale s'effectue en 36 heures, d'après ces auteurs.

Zintel et ses collaborateurs (307), dont les investigations portent sur 10 sujets, indiquent des chiffres extrêmes de 29 et

89 %, moyenne 66 %, après injection intra-veineuse unique de 600 mgr.

Heilman et ses collaborateurs (139), pour des injections de 100 à 400 mgr. toutes les 8 heures, trouvent des coefficients allant de 16,7 à 80 %.

Maral et Blandin (204) le situent entre 50 et 70 %.

Les coefficients quotidiens d'élimination de nos malades présentent des variations aussi grandes que celles publiées par les divers auteurs. Atteignant des taux très bas, 17,5 dans un cas, ou élevés, 82 %, nous trouvons, dans la majorité des cas, après de multiples dosages, des coefficients de l'ordre de 45 à 60 %.

Nous avons pensé qu'à des coefficients faibles correspondaient des concentrations sanguines élevées ; l'étude comparée de la concentration sanguine minima et du coefficient d'élimination urinaire a infirmé en partie cette hypothèse.

A des concentrations sanguines identiques correspondent des coefficients d'élimination parfois fort différents, par exemple : pour une concentration sanguine de 3 gamma, 25 par cc. nous trouvons des coefficients d'élimination de 37 % dans un cas et 63 % dans l'autre.

La streptomycine, dans ces cas, est éliminée par d'autres émonctoires ; ces faits nous montrent l'importance du facteur personnel d'élimination ; ce facteur varie certainement dans le temps, comme paraissent nous le prouver les résultats parfois différents obtenus dans les mêmes conditions expérimentales chez le même malade, d'où la complexité du problème et la nécessité du contrôle de l'élimination de l'antibiotique.

Le tableau ci-contre nous montre les variations considérables de l'élimination de la streptomycine suivant les sujets. 50 à 80 % du produit traversent le filtre rénal dans les 24 heures.

Cependant, la constatation d'un coefficient d'élimination par trop faible témoigne bien souvent d'un déficit rénal qui entraîne une élévation parallèle de la streptomycinémie. Nous

1 gramme en 6 injections par voie intra-musculaire en 24 heures				
Noms	gam. par cc	vol. urinaire en litres 24 heures	milligrammes de streptomy. éliminés	coefficient d'élimination
Mlle Fon...	320	2	640	17,25 %
Mlle An. ..	363	0,7	544,5	53,60 %
Mme Bou...	246	2	172,5,	64,60 %
Mme Lact.	268	2,550	536	54,5 %
M. Lap. ..	253	1,5	646,5	63 %
Mme Ri. ..	630	1	630	64 %
1 gr. 50 en 3 injections par voie intra-musculaire en 24 heures				
M. Duf. ..	428	1,5	642	42,80 %
M. Dar. ..	780	1,2	936	62,40 %
M. Dub. ..	350	2,2	770	51,40 %
M. Ma. ..	348			

2 grammes en 2 injections par voie intra-musculaire en 24 heures				
Noms	gam. par cc.	vol. urinaire 24 heures en litres	milligrammes de streptomy. éliminés	coefficient d'élimination
Mme An. ..	420	2,2	924	46,20 %
Mlle Fi. ..	454	1,6	726	36,30 %
M. Rl.	1.146	1,5	1.700	85 %
Mlle A. ..	766	1,3	996	49 %
M. Po.	500	2	1.000	50 %
Mme Car...	650	1,2	780	39 %

avons cité par ailleurs l'observation de M. Bo..., dont le coefficient d'élimination était seulement de 17,20 % et la concentration sanguine très forte puisque elle était de 70 gamma.

Les examens de la fonction rénale révélèrent une azotémie et une constante d'Ambard élevées, un épreuve à la P.S.P. déficiente ; cette malade mourut deux mois après d'azotémie.

En somme, dans les cas habituels, nous pouvons conclure que la vitesse d'élimination de la streptomycine est assez grossièrement proportionnelle à la dose injectée. Elle varie suivant les sujets et l'état du parenchyme rénal, dont l'altération entraîne la rétention dans l'organisme.

Nous avons également dosé les urines séparées d'un malade, M. Car..., soumis à des injections intra-musculaires de 1 gramme à raison de 2 injections par jour et suspecté de bacillose rénale.

Chaque rein concentre d'une façon identique puisque les concentrations trouvées sont de 268 gamma pour le rein gauche et 250 gamma pour le rein droit.

L'étude de l'élimination de la streptomycine chez le malade présente un faible intérêt puisqu'elle renseigne fort peu sur la concentration sanguine parallèle.

Cependant, la constatation d'une élimination faible fera suspecter une altération rénale dans la genèse de laquelle l'antibiotique peut être incriminé et dès lors contre-indiqué.

Une forte élimination incitera à étudier la courbe sanguine qui pourra révéler des concentrations sous-bactériöstatiques qu'il conviendra d'améliorer en augmentant les doses.

D'un intérêt clinique bien moins important que l'étude de la concentration sanguine, l'étude de l'élimination urinaire apportera au clinicien des renseignements non négligeables qui lui permettront de mieux ajuster les doses de l'antibiotique.

B. — *Elimination biliaire*

Etudiée par Zintel et collaborateurs (307), par Heilman et collaborateurs (139), Zaslov, Counseller et Heilman (304-305-306), la concentration maxima y est atteinte au bout de 2 heures et oscille entre 3 gamma et 11 gamma par cc. Zaslov

et collaborateurs concluent que le foie ne concentre pas la streptomycine ; l'absence de streptomycine dans la bile hépatique serait l'indice d'une altération du parenchyme de la glande.

L'antibiotique ne passe dans la vésicule biliaire qu'à la double condition que le canal hépatique ne soit pas obstrué et que le parenchyme soit intact ; une fois arrivée dans la vésicule biliaire, il ne semble pas que la streptomycine s'y concentre.

On estime qu'environ 20 % de la dose injectée est éliminée par cette voie.

CHAPITRE III

ACTIVITÉ EXPÉRIMENTALE DE LA STREPTOMYCINE

L'étude de l'activité expérimentale d'un antibiotique in vitro et in vivo reste la clef de voûte des indications thérapeutiques.

Ces études permettent d'apporter une solution à un certain nombre de points fondamentaux concernant l'activité expérimentale de la streptomycine et ses indications thérapeutiques.

Elles renseignent sur :

— la sensibilité des germes à l'antibiotique ;

— la toxicité du produit dont la connaissance entraîne l'indication ou la contre-indication de l'antibiotique, des modifications dans les doses et le rythme des injections, la durée du traitement.

La toxicité du produit, révélée par l'étude expérimentale chez l'animal a été vérifiée ultérieurement lors des applications cliniques de la substance.

Si la sensibilité varie suivant les espèces microbiennes et la souche en cause, elle varie aussi au cours du traitement.

D'autre part, nous l'avons déjà souligné dans l'introduction, certaines souches sensibles in vitro à la streptomycine ne sont pas influencées par ce même antibiotique in vivo; nous faisons intervenir ici la notion de foyer que nous préciserons plus loin.

Quoiqu'il en soit, malgré les possibilités du développement d'une résistance secondaire à l'antibiotique, malgré la notion de foyer inaccessible, la connaissance du facteur sensibilité du germe à l'antibiotique apporte au clinicien l'élément même de l'indication du traitement.

Sensibilité des germes à la streptomycine :

Deux procédés bien distincts permettent de reconnaître si un germe est sensible à la streptomycine :

1° l'inoculation du germe à un animal de laboratoire auquel on administre par la suite l'antibiotique ;

2° la détermination in vitro de la sensibilité du germe à la streptomycine dont le principe est la réciproque même des techniques de dosage de l'antibiotique par les méthodes biologiques ; elles consistent, partant de dilutions d'antibiotique connues, à inhiber la croissance du germe en cause.

Nous donnerons un bref aperçu des travaux expérimentaux sur l'animal, réalisés surtout par les auteurs américains. Nous nous attarderons sur l'étude de la sensibilité des germes in vitro, dont les techniques peuvent être couramment utilisées en pratique et dont les résultats apportent à la clinique un précieux secours.

Nous étudierons donc, dans ce chapitre, l'activité biostatique expérimentale de la streptomycine sur divers germes.

Nous exposerons les méthodes de dosages de l'activité biostatique de la streptomycine sur divers germes et sur le bacille de Koch, les chiffres obtenus et les conséquences cliniques et thérapeutiques qui en découlent.

A) Action expérimentale in vivo de la streptomycine

La streptomycine possède une activité thérapeutique remarquable dans un grand nombre d'infections expérimentales.

Son efficacité dans le traitement de la tuberculose expérimentale est des plus spectaculaires.

Nous allons passer en revue les travaux expérimentaux les plus connus réalisés en laboratoire.

a) *Germes autres que le B. K.*

Action sur les Salmonella :

Jones, Metzer, Schatz et Waksman (150), utilisant des souris de 18 à 20 gr., protègent celles-ci contre l'infection par Salmonella Schottmülleri avec une dose totale de 6,5 mgr. Des expériences très comparables sont dues à Robinson, Smith et Græssle (256) ; Kempe (155), à l'aide de 100 unités de streptomycine, inhibe la multiplication sur la membrane chorio-allantoïdienne d'un œuf fécondé de 0,1 à 0,2 cm3 d'une suspension d'E. typhi ; une dose identique est nécessaire pour inhiber S. Aertrycke.

Smith et Robinson (270), en incorporant dans l'alimentation des souris 30 à 300.000 unités de streptomycine par jour, observent une stérilisation progressive du contenu intestinal portant d'abord sur les colibacilles et ensuite sur toute la flore intestinale.

Les expériences de Emerson et Smith (92) ont porté sur la flore intestinale du rat ; elle aboutissent à la même conclusion : stérilisation partielle et progressive de la flore coliforme.

Kempe et collaborateurs (155), étudiant la croissance d'Escherichia Coli sur l'embryon de poulet, trouvent que la croissance de celui-ci est inhibée par 5 unités.

Levaditi (179) stérilise un péritoine de rat infecté d'une culture de coli à l'aide de 1.000 à 5.000 gamma, alors que les témoins meurent en 24 heures.

Ces données trouvent leur application dans le traitement des infections intestinales chroniques et dans la préparation pré-opératoire de la chirurgie colique.

Metzger, Waksman et Pugh (224) ont montré l'action expérimentale bactériostatique de la streptomycine contre l'infection par Brucella abortus de l'embryon de poulet.

Ces recherches ont été confirmées par Metzger, Schatz et Waksman, par Jones et collaborateurs (150), qui qualifient

d'excellente la protection apportée par la streptomycine contre Brucella abortus.

Cependant, Lives, Sperling et Stubbs (197) démontrent que cette action est incomplète, et ce d'autant plus que le traitement est institué tard. D'après Kelly et Henley (154), cette action est peu marquée sur la souris et le rat.

Spink, Hall, Shaffer et Brand (274-275-276-277), associant la streptomycine aux sulfamides, obtiennent une action antibiotique plus durable sur l'embryon de poulet infecté ; néanmoins, il existe dans la culture et malgré la présence d'antibiotique des Brucella viables.

Pseudomonas aeruginosa et Proteus vulgaris sont sensibles in vivo à la streptomycine, comme le montrent les travaux sur la souris de Jones et collaborateurs (150), repris plus tard par Waksman, Bugie et Schatz (290), de Ordal et Meyer (237), de Levaditi (179) sur l'embryon de poulet.

Les bacilles dysentériques et para-dysentériques sont à peu près uniformément sensibles à la streptomycine ; celle-ci protège les embryons du poulet de l'infection due à Shigellæ Gallinarum (Jones, Metzger, Schatz et Waksman (150).

Le bacille de Friedlander paraît très sensible à la streptomycine.

Heilman (134) montre que des concentrations sanguines de 0,15 à 0,37 gamma par cc. protègent la souris contre 1.000 à 10.000 doses léthales injectées par voie péritonéale.

Hegarthy, Thiele et Verwey (133), inoculant les souris par voie intra-cérébrale de suspensions mortelles et traitant ces infections par voie intra-péritonéale à raison de 0,5 mgr. de streptomycine par jour durant 5 jours, obtiennent une survie des souris infectées.

Pour des doses plus fortes, 2 mgr. par jour, durant 10 jours, les souris sont entièrement protégées. Bradford et Day (29), inoculant les souris par voie nasale, confirment l'action bactériostatique de la streptomycine sur le bacille de Bordet-Gengou et Alexander et Leidy (5 et 6), reprenant ces expé-

riences, soulignent les possibilités thérapeutiques de la streptomycine dans la coqueluche.

Hewit, Pittman (143), Alexander et Leidy (5 et 6) démontrent la remarquable activité de la streptomycine sur l'infection expérimentale de la souris par le bacille de Pfeiffer.

Heilman et collaborateurs (136), Chapman et collaborateurs (49) affirment son efficacité sur l'infection expérimentale de la souris par Pasteurella Tularensis, à raison de 1.000 unités sous-cutanées par jour durant 10 jours.

L'infection pesteuse de la souris a pu guérir par l'injection de streptomycine. L'action bactériostatique sur les spirochètes, étudiée dans le traitement des infections de la souris (leptospirose ictéro-hémorragique et fièvre récurrente), dans le traitement de lapins inoculés avec le tréponème pâle (Dunham et Rake) ne semble pas notable : d'ailleurs, le peu d'intérêt de la streptomycine dans le traitement de la syphilis fut confirmé en clinique par Herrell et Nichols.

b) *Action expérimentale sur le B. K.*

Les expériences de Feldman et Hinshaw (96-97-98-99), Feldman, Hinshaw et Mann (101-102) montrent non seulement que la streptomycine est capable d'empêcher le développement de la tuberculose expérimentale chez le cobaye tuberculisé et traité dès les premiers jours, mais encore d'exercer sur les signes cliniques de l'infection des cobayes traités tardivement, vers le 14e jour, une action impressionnante.

Steenken et Wolinsky (280), Smith et Mc Closky (271), Corper et Cohn (56-57-58), Callomon, Kolmer, Rule et Paul (39) concluent également à l'efficacité de la streptomycine sur la tuberculose du cobaye, efficacité d'autant plus grande que l'infection est traitée précocement ; de l'association avec un dérivé sulfoné, la diasone, résulterait une activité plus grande.

Rockwell (257), administrant 14.000 unités de streptomycine par jour, durant 30 jours, à des cobayes tuberculisés, guérit ceux-ci de l'infection tuberculeuse.

E. Bernard et Kreis (21), constatent l'action suspensive de la streptomycine sur l'infection expérimentale du rat ou de la souris ; mais ces auteurs mettent en évidence le rôle capital que joue le terrain dans la lutte contre la tuberculose ou, sans les réactions de l'organisme, l'action de l'antibiotique est inopérante.

Les expériences sur le rat et la souris ne font que confirmer les données précédentes. Les travaux de Youmans et Mc Carter (301-302), de Levaditi et Vaisman (181-182-183-184-185-186-187-188-189) montrent l'action protectrice de la streptomycine dans l'infection tuberculeuse provoquée chez des animaux par voie veineuse. Mêmes conclusions de Corper et Cohn (56-57-58).

Smith, Closky et Emmart (272), associant la promine à la streptomycine pour traiter l'infection tuberculeuse expérimentale du rat blanc concluent que, dans les conditions d'expérience, la promine et la streptomycine exercent un effet négligeables sur l'infection, alors que le traitement combiné stérilise l'infection chez 4,6 des rats inoculés, sans toutefois expliquer le mécanisme de cette action thérapeutique synergique.

Enfin, les expériences de Emmart (93), puis de Lee et Stavitsky (175) sur l'infection tuberculeuse de l'embryon de poulet, montrent que la streptomycine exerce un effet modérateur, mais les cultures permettent de retrouver des bacilles dans divers organes.

De ces divers travaux, il ressort que la streptomycine exerce sur la tuberculose expérimentale une action indéniable.

B) Mesure de la sensibilité d'un germe in vitro

I. — *Principe des méthodes de dosage*

Toutes ces méthodes se réfèrent au phénomène d'inhibition de la croissance d'un germe sensible à la streptomycine lorsque ce germe est mis en présence de l'antibiotique.

Pour la commodité de l'exposition, nous diviserons ce chapitre en deux parties. Dans l'une, nous envisagerons la sensibilité d'un germe autre que le B.K., dans l'autre celle des B.K.

Détermination de la sensibilité d'un germe autre que le B.K. à la streptomycine

Ces méthodes sont la réciproque même des méthodes de titrage de l'antibiotique, puisqu'elles consistent à réaliser, à l'aide de solution de titre connu d'antibiotique, la bactériostase d'un germe dont on recherche la sensibilité.

Il est évident que les remarques concernant les facteurs influençant la pousse microbienne, dont nous avons montré l'importance à propos du dosage de l'antibiotique par les méthodes biologiques, s'appliquent à l'étude de la sensibilité des germes. Nous les rappelons brièvement :

Le milieu doit demeurer fixe dans sa composition qualitative et quantitative ; nous avons vu combien la sensibilité d'une espèce varie avec la composition du milieu, sa teneur en glucose, en albumine, en sels alcalins.

Cependant, la constitution du milieu doit être favorable au développement de l'espèce en cause ; certains milieux, par leur composition, leurs réactions au cours de la croissance du germe, neutraliseraient une partie de la streptomycine et les taux trouvés seraient inférieurs au titre réel de la solution.

D'autre part, May, Voureka, Fleming (222) font remarquer que plus le milieu est adapté à la croissance du germe, plus la résistance de celui-ci est élevée, comme si un milieu favorable exerçait un effet protecteur sur les corps microbiens.

Pour amoindrir ces variations, il est nécessaire de déterminer simultanément, par une mesure effectuée avec une souche étalon, staphylocoque Oxford ou Klebsiella pneumoniae, le pouvoir modificateur du milieu. Il est représenté par la différence entre la sensibilité donnée par le titrage dans le milieu d'une souche étalon et la sensibilité connue de cette souche

étalon. Ce pouvoir modificateur du milieu est donc représenté par la chute du potentiel antibiotique du milieu.

Dans le titrage de la sensibilité d'un germe à la streptomycine, il convient donc de tenir compte de la chute du potentiel antibiotique du milieu. La correction consiste à ajouter à l'index de sensibilité de la souche testée le chiffre mesurant la chute du potentiel antibiotique du milieu utilisé.

Le pH du milieu doit être fixe ; nous avons vu avec Waksman, Bugie et Schatz (290) combien l'acidité du milieu diminuait l'action de la streptomycine par blocage réversible à l'état de sel, puisque Wolinsky et Steenken (296), Geiger, Green et Waksman (119) restituent à une solution acide de streptomycine son potentiel antibiotique par addition de tampon phosphaté.

La densité microbienne modifie l'intensité de l'action d'un antibiotique par l'hétérogénéité de sa population vis-à-vis de l'action de cet antibiotique, hétérogénéité d'autant plus grande que l'inoculum est plus important. Klein et Kimmelman (159), Alexander et Leidy (5 et 6), Hobby, Lenert et Hyman (147) trouvent en outre des variations de la sensibilité du germe d'un jour à l'autre, sans modification du milieu ni des autres facteurs analysés.

L'influence du stade évolutif des bactéries et la durée de l'incubation sont autant de facteurs susceptibles de modifier la sensibilité du germe et qu'il convient de maintenir identiques.

De par les variations des index de sensibilité suivant les méthodes de mesure, dilution ou diffusion, la nature des bouillons, les proportions et la nature des constituants, le pH, l'inoculum, la présence d'antagonistes chimiques, il importe de ne comparer que des résultats obtenus dans les mêmes conditions et de préciser ces conditions.

Le pouvoir antibiotique de la streptomycine à l'égard d'un germe s'exprime par la plus petite quantité de streptomycine susceptible d'entraver la croissance de ce germe. C'est ce que

les Anglo-Saxons appellent tantôt l'indice M.I.C. (Minimal Inhibiting Concentration), tantôt l'indice M.E.C. (Minimal Effective Concentration).

Nous donnons à la fin de notre travail un tableau de l'index des sensibilités des espèces microbiennes à la streptomycine emprunté à Murray, Paine et Finland (236).

Ce tableau permet d'avoir une idée sur la sensibilité de l'espèce microbienne en cause.

Mais les différences, parfois considérables, pour une même espèce, montrent combien la détermination in vitro de la sensibilité de la souche en cause est indispensable.

Valeur des résultats :

Les variations importantes des chiffres relevés dans la littérature pour des séries d'expériences portant sur les germes d'un même groupe reflètent les conditions variables dans lesquelles se sont placés les expérimentateurs. Ce n'est qu'en standardisant ces éléments qu'on arrive à la précision demandée pour le titrage biologique. On conçoit donc facilement que le chiffre noté n'est qu'une image imparfaite du taux réel pour inhiber le germe dans l'organisme malade, ou les conditions microbiennes sont bien différentes.

Cette imprécision, cependant, n'enlève pas la valeur de ces tests, car la comparaison entre les résultats du laboratoire et de la clinique montrent, comme nous allons le voir, un parallélisme certain.

II. — *Les méthodes*

1) METHODES DE DILUTIONS

Utilisées depuis longtemps pour les antiseptiques, elles déterminent la concentration minima par cc. nécessaire pour inhiber la croissance d'un germe.

Principe : Dans une série de tubes de milieu de culture on réalise une gamme décroissante de concentration de streptomycine et l'on ensemence à l'aide du germe à étudier.

Après incubation à l'étude à 37°, la limite du taux d'inhibition donnera directement le taux de sensibilité du germe.

Titrage proprement dit :

1° Réaliser une solution de streptomycine titrant 1.000 gamma par cc., soit 1 cc. de la solution commerciale titrant 50.000 gamma par cc. dans 49 cc. de sérum physiologique.

2° Préparer une série de 9 tubes à essais, le premier contenant 9 cc. de bouillon de culture, les autres 5 cc.

Dans le premier, on ajoute exactement 1 cc. de la solution titrant 1.000 gamma par cc., on agite, le titre final est de 100 gamma ; 5 cc. de cette solution en bouillon à 100 gamma sont portés dans le tube suivant, le titre de ce tube sera de 50 gamma, et ainsi de suite. Les divers tubes titreront 100 gam., 50 gam., 25 gam., 12 gam. 5, 6 gam. 25, 3 gam. 125, 1 gam. 56, 0 gam. 78, 0 gam. 38.

3° Ensemencer chaque tube avec une goutte de dilution à 1/100e d'une culture de 24 heures du germe à étudier.

4° Porter à l'étuve durant 18 à 24 heures.

Lecture des résultats : On fera la moyenne des concentrations du premier tube ou l'inhibition a lieu et du premier tube dans lequel la croissance du germe est visible.

Mais nous avons vu combien les variations du milieu pouvaient perturber le résultat. Aussi convient-il, pour chaque titrage, d'étalonner le milieu à l'aide d'une souche fixe : staphylocoque Londres par exemple.

On obtient ainsi le taux de sensibilité d'un germe vis-à-vis de la streptomycine exprimé en unités de streptomycine par centicube.

Sensibilité de la méthode :

La sensibilité de ces méthodes de dilution est fonction de l'écart des concentrations entre deux tubes voisins. Pour augmenter cette sensibilité il suffit d'opérer dans la zone supposée bactériostatique et de serrer l'échelle dans cette zone.

VARIANTES :

Des artifices de lecture : indicateurs colorés, milieux hémolytiques, si le germe s'y prête, sont à l'origine d'autant de variantes.

2) METHODES PAR DIFFUSION

Diverses techniques analogues aux techniques de dosage de l'antibiotique par les méthodes de diffusion sont utilisées pour déterminer la sensibilité des germes à la streptomycine : cylindres, cups en gélose, papiers filtres imbibés de streptomycine, stries sur gélose (agar diffusion streak de FLEMING).

Technique : Le germe à tester est ensemencé dans un bouillon peptoné neutre et incubé à l'étuve à 37° durant 24 heures. On inocule une boîte de Pétri avec 2 cc. d'une dilution à 1/1000 de ce germe en sérum physiologique ; deux ou trois dilutions d'antibiotique sont alors introduites dans le milieu, soit en cupules, soit en cylindres, soit sur papier filtre. Les boîtes de Pétri ainsi préparées sont mises à l'étuve à 37° durant 18 à 24 heures.

Lecture des résultats : Il existe autour des sources d'antibiotique des auréoles claires, aseptiques, alors que la surface environnante de la gélose est granitée par les colonies microbiennes. Le diamètre des cercles d'inhibition est d'autant plus grand que les germes sont sensibles à la streptomycine. Nous exposerons plus loin comment on peut calculer l'index de sensibilité d'une souche par la méthode de diffusion.

Agar diffusion streak de FLEMING : Dans une boîte de gélose stérile, on trace parallèlement deux rigoles longitudinales et des rigoles transversales équidistantes entre les rigoles longitudinales.

Dans les rigoles longitudinales on introduit la ou les solutions d'antibiotique de titre connu. Ces rigoles transversales

sont inoculées à l'aide d'un ensemenseur de la culture à examiner; dans l'une d'entre elles on introduit une culture du germe test dont on connaît la sensibilité.

La croissance du germe est d'autant plus inhibée que le germe est sensible à l'antibiotique.

3) METHODES DE MESURES IN VITRO DE LA SENSIBILITE DES B. K. A LA STREPTOMYCINE

Méthode par ensemencement direct, sur lame immergée, proposée par JENSEN, ou sur milieu à l'œuf, proposé par BRETEY.

On incorpore au milieu des quantités connues d'antibiotique et l'on ensemence directement.

Cette méthode a l'avantage de donner une réponse rapide et suffisante au clinicien, mais elle nécessite des inoculats riches en bacilles, qui constituent la minorité des cas.

Méthodes avec repiquages :

Les repiquages d'inoculats égaux peuvent être réalisés :

a) sur milieux solides,

Méthode de FROYEZ.

Milieu de JENSEN coagulé en une seule fois, après inclusion de streptomycine.

b) sur milieux liquides.

Milieu de YOUMANS,

Milieu de DUBOS,

que nous allons exposer.

MILIEU DE DUBOS

L'étude de l'action de l'antibiotique sur le B.K. nécessite l'utilisation de cultures en milieu liquide, homogènes et d'une obtention rapide. Le milieu synthétique de DUBOS nous a paru présenter au maximum ces avantages. Toutefois, la sensibilité de ce milieu vis-à-vis d'inoculats paucibacillaires n'est pas constante; ces faits semblent en rapport avec, soit un dé-

faut de facteur de croissance ou avec un excès de facteur d'inhibition. Il en résulte que le milieu de Dubos ne saurait être utilisé à coup sûr comme un milieu d'isolement, l'inoculum, dans ce cas, étant trop pauvre en bacilles, mais les avantages qu'il présente sur les autres milieux de cultures de bacterium tuberculosis en font le milieu synthétique de choix pour l'étude expérimentale et biologique de la tuberculose.

Formule du milieu de Dubos *utilisée pour nos dosages*

Parmi les nombreuses formules proposées par R. Dubos (85-86-87), la suivante nous a permis d'obtenir des cultures rapides et homogènes. Nous en donnons la préparation :

a) Milieu de base :

Phosphate acide de potasse PO4 H2 K	1 gr.
Phosphate disodique PO4 H Na2	6 gr. 3
Asparagine	2 gr.
Sulfate de fer ammoniacal	0 gr. 05
Sulfate de magnésie	0 gr. 05
Hydrolysat de caséïne (Ronchèse)	2 gr.
Eau bi-distillée sur verre q. s.	1.000 cc.

Le pH est ajusté à 6,8.

Le milieu de base est filtré sur papier Chardin puis stérilisé à l'autoclave à 120° durant 15 minutes.

Le milieu de base définitif est constitué par addition de Tween 80 : 0,30 cc. On complète à 1.000 cc. par addition d'eau bi-distillée. On stérilise de nouveau à l'autoclave à 120° durant 15 minutes.

b) Milieu définitif :

Le milieu de base est alors réparti en tubes de 20 cc. à raison de 5 cc. par tube. Après une nouvelle stérilisation à 115° durant 15 à 20 minutes, on ajoute aseptiquement dans chaque

tube 0,5 cc. d'une solution à 5 % en eau salée de la fraction V d'albumine sérique de bœuf dont nous donnons plus loin la préparation. Cette albumine est également préparée par la firme Armour Company, à Chicago.

Les tubes sont bouchés soigneusement au coton, encapuchonnés au caoutchouc. On évitera de souiller le milieu de particules de coton, celui-ci pouvant entraîner des perturbations sérieuses dans les cultures à la suite de la libération de corps gras ou de goudron au moment de la stérilisation ou du flambage.

Le milieu définitif ainsi préparé doit toujours être utilisé dans un délai maximum de 20 jours après sa préparation, alors que le milieu de base peut être conservé indéfiniment.

Nos milieux et les échantillons de fraction V sont conservés à la température de 4°.

c) Caractères originaux du milieu de Dubos

1° *Le rôle des mouillants :*

Le Tween 80 peut rendre le B.K. hydrophile en recouvrant la surface du germe et assure à la culture une dispersion et une homogénéité que l'on n'a point coutume d'observer avec cette bactérie hydrophobe qui donne ordinairement un voile en surface.

2° *Rôle de la fraction V :*

Dubos présenta sa première formule en 1945 (85). Les résultats ne furent pas toujours satisfaisants et une mise au point s'imposait. Dubos lui-même, dans ses publications successives, a apporté les constatations suivantes (86-87) :

La présence d'acide oléique libre dans le Tween 80 a une action inhibitrice sur la croissance du B.K. En outre, la fraction V d'albumine sérique de bœuf par action d'une lipase peut augmenter la teneur du milieu en acide oléique. Cette lipase peut être inactivée par chauffage à 56° durant 30 minutes.

Ainsi débarrassée de la lipase, la fraction V aurait une action tampon neutralisant l'acide oléique contenu dans le

Tween 80. Cet acide oléique est dissimulé sous forme d'ester ou de complexe albuminoïde et devient un accélérateur de la croissance sous cette forme.

3° *Valeur nutritive du milieu :*

La valeur nutritive du milieu a été très discutée. Certains auteurs : Hauduroy et Rosset (130), Valtis, Solomides (286) la trouvent franchement médiocre.

Corper, Cohn et Frey (66), Paoletti (239) le trouvent cent fois moins sensible que le milieu de Jensen et Loewenstein.

Ces auteurs, il est vrai, utilisent le sang total et non la fraction V dont nous avons plus haut signalé l'action neutralisante vis-à-vis de l'acide oléique (cet acide oléique inhibant dans le milieu la croissance du germe).

Or Bastin (13) a montré que si le sang total ou le sérum sanguin peuvent stimuler le départ des cultures en milieu de Dubos, dans bien des cas ils peuvent jouer par la suite un rôle inhibiteur.

d) Résultats - *Utilisation du milieu de* Dubos *et* Davis

Avec le milieu de Dubos, selon la formule donnée plus haut et la fraction V préparée par nos soins au Laboratoire de la Sécurité sociale, nous obtenons des cultures rapides puisque visibles le deuxième jour et homogènes.

Mais les germes ensemencés dans ce milieu liquide proviennent de cultures déjà isolées sur milieu de Jensen et Loewenstein. Nous ne pensons pas, en effet, que le milieu synthétique de Dubos et Davis puisse servir de milieu d'isolement ; nous n'avons d'ailleurs réussi qu'une seule fois à cultiver directement une souche sur le milieu liquide à partir d'un produit d'expectoration.

En utilisant le milieu de Dubos, notre but est d'obtenir des cultures rapides et homogènes afin d'étudier leur sensibilité à la streptomycine. Les faibles inoculats se développent mal et ne contiennent qu'une partie des individus d'une souche hétérogène au point de vue de sa résistance à l'antibiotique.

D'autre part, Linz et Mutsaars (196) signalent que l'effet bactériostatique diminue pour des quantités croissantes de germe. Ces considérations nous ont conduit à utiliser des inoculats de 0,3 cc. au début puis de 0,5 cc., ces derniers donnant une croissance plus rapide et une opacification plus nette du milieu.

La rapidité et l'homogénéité des cultures constituent les propriétés fondamentales et nous pensons, après Middlebrook, Yegian (226), Lavergne (173), Gernez Rieux (120-121), Bastin (12), et bien d'autres auteurs, que le milieu de Dubos et Davis constitue un milieu de choix pour l'étude expérimentale de la tuberculose.

e) Préparation de la fraction V d'albumine sérique de bœuf (Méthode de Machebœuf) - Technique de Cohn (55)

La sérum-albumine doit être préparée au voisinage de 0° avec des produits sortant de la glacière.

Dans un premier temps, on fait une séparation des albumines en précipitant les globulines à l'aide d'une solution saturée de sulfate d'ammonium, grâce à la différence de solubilité de ces albumines en présence de ce sel. On centrifuge à 6.000 tours à la minute en évitant l'échauffement.

On ajoute SO4 H2 à N/5 pour acidifier le liquide surnageant et une quantité égale de sulfate d'ammonium. Nouvelle centrifugation.

Les albumines sont redissoutes dans un volume égal au volume primitif à l'aide d'un tampon acétate à pH 5,80.

On ajoute de l'alcool, de façon à obtenir un titre final de 40 % en volume d'alcool absolu.

On centrifuge. Le liquide surnageant est amené à pH 5,8. Le précipité constitue la fraction V que l'on redissout dans une quantité de sérum physiologique égale au 1/6 du volume initial de sérum de bœuf utilisé.

On obtient ainsi la solution à 5 % d'albumine sérique de bœuf qui se présente sous forme d'un liquide jaune clair et visqueux.

Les résultats obtenus avec la fraction V ainsi préparée sont identiques à ceux obtenus à l'aide de la fraction V d'Armour.

f) Culture du B. K. sur le milieu de Dubos

L'inoculum.

On peut partir soit d'une culture solide de Jensen et Lowenstein que l'on repique dans un milieu synthétique de Dubos, soit directement à partir de produits pathologiques susceptibles de renfermer des B.K. Dans ce dernier cas, on traitera le produit pathologique, la plupart du temps surinfecté, selon les techniques classiques : solution à 15 % d'acide sulfurique durant une demi-heure, puis addition, goutte à goutte, d'une solution de soude à 30 %, jusqu'à coloration rose lilas de la solution précédente, additionnée de 2 gouttes de teinture de tournesol.

Croissance de la souche sur le milieu de Dubos

La souche de B.K. pousse rapidement dans le milieu liquide. Sa croissance est visible vers le 5e jour. Elle se manifeste par une culture submergée qui tapisse le fond du tube ; elle augmente rapidement dans les jours qui suivent et atteint son maximum entre le 10e et le 15e jour. Une agitation très légère fait s'élever une culture filamenteuse et une agitation plus intense provoque un trouble constitué par des petites granulations, colonies microbiennes, qui opacifient le milieu. Généralement, au bout de quelques heures, ces petites granulations sédimentent au fond du tube et le milieu redevient clair. Cependant, le trouble peut persister dans quelques cas.

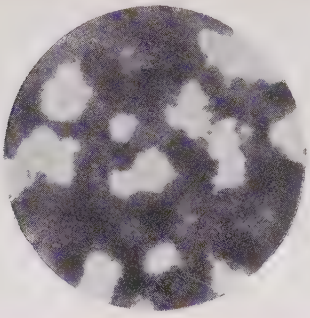
Une agitation plus énergique donne lieu à un trouble uniforme témoin d'une culture très homogène.

Microscopiquement, ces colonies se présentent sous forme de gros amas compacts ou bien sous forme de torsades épaisses. Gernez-Rieux, Sevin et Spy (121).

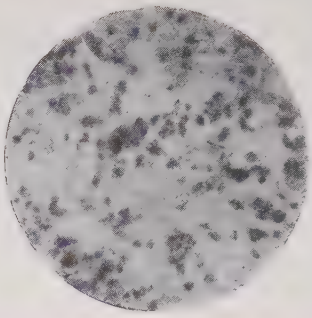
Un deuxième passage sur milieu de Dubos permet d'obtenir plus rapidement, en l'espace de 3 à 5 jours, des colonies plus

dispersées, plus homogènes. Ces colonies apparaissent au microscope, soit sous forme de petits amas, soit d'individus isolés.

Il y a donc intérêt à habituer la souche au milieu de Dubos par un premier passage des germes. Au bout de 15 jours, 0,5 cc. de ces cultures en milieu liquide sont à nouveau repiqués sur milieu de Dubos. Après un passage de 5 jours, ces cultures peuvent être utilisées pour mesurer in vitro la sensibilité du germe à l'antibiotique.



Aspect microscopique des cultures de B. K. après un passage en Dubos. Amas compacts.



Après un deuxième passage, la culture est plus homogène.

g) Etude de la sensibilité des B. K. a la streptomycine

a) *Technique utilisée pour nos dosages :*

La détermination in vitro de la sensibilité du bacille tuberculeux à la streptomycine peut être réalisée en milieu liquide suivant la même technique que celle utilisée pour la détermination de la sensibilité des autres germes à l'antibiotique en dilutions sériées.

On ensemence chaque tube de 0,5 cc. de la culture du 2e passage en Dubos et on porte à l'étuve à 37°.

Comme nous l'avons dit précédemment, la croissance se manifeste vers le deuxième jour sous forme d'un dépôt blanchâtre au fond du tube. Une légère agitation fait s'élever une

trainée blanchâtre, filamenteuse ; en poursuivant l'agitation, on obtient un trouble très homogène de la culture.

La croissance se poursuit jusqu'au sixième ou septième jour, l'opacité des tubes est alors plus intense, et la différenciation avec ceux dans lesquels le germe a été inhibé s'en trouve pour autant facilitée.

Nous apprécions par méthode turbidimétrique, méthode d'ailleurs utilisée par Wolinsky et Steeken (295), Smith (269), la croissance des germes.

III. — *Résultats*

a) SENSIBILITE A LA STREPTOMYCINE DES GERMES AUTRES QUE LE B. K.

La connaissance de la sensibilité des germes à l'antibiotique, on le conçoit, apporte au clinicien un élément capital.

D'une part, le spectre bactérien de la streptomycine indique l'emploi de l'antibiotique ou le contre-indique suivant la sensibilité de l'espèce en cause à son égard.

D'autre part, l'étude in vitro de la souche — nous avons insisté sur la variabilité de la sensibilité à l'antibiotique des individus d'une même espèce microbienne, — qui demande 24 h., ne saurait retarder en aucun cas le déclanchement d'urgence de la thérapeutique dont l'indication nous est donnée par le spectre bactérien; mais la détermination de la sensibilité de la souche infirme ou confirme la thérapeutique: si la souche s'avère résistante, il conviendra de choisir un autre antibiotique: si la sensibilité est élevée, mais accessible à l'antibiotique, il convient d'augmenter les doses et de veiller parallèlement à ce que les concentrations sanguines soient suffisantes ; enfin, si la souche s'avère très sensible, le problème paraît résolu d'avance ; néanmoins, il ne faut pas oublier que la localisation anatomique d'un germe sensible peut mettre en échec

une thérapeutique bien conduite, témoin le cas d'une de nos malades, Mme Le..., qui présentait une angiocholecystite à Para B sensible in vitro à 0,75 gr. de streptomycine et à 3 gam. de chloromycétine. La streptomycine n'eut aucune action sur les phénomènes infectieux, la chloromycétine les stoppa d'une façon spectaculaire.

Enfin, au cours du traitement, la souche peut devenir secondairement résistante ou dépendante, c'est-à-dire que sa croissance peut être favorisée par l'antibiotique. Dans ces cas, son emploi devient inutile, voire même néfaste, et l'arrêt du traitement s'impose.

Choix de l'antibiotique, modifications dans les doses, poursuite du traitement, tels sont les indications que la biologie peut apporter à la clinique dans une thérapeutique antibiotique.

Travaux personnels :

Le rationnement de la streptomycine dans les deux premières années de son utilisation obligea les cliniciens à la réserver aux seules affections pour lesquelles aucune arme thérapeutique ne s'était montrée jusqu'à ce jour efficace, et, en particulier, aux affections aiguës évolutives, tuberculoses aiguës, méningites tuberculeuses, granulies, tuberculoses pulmonaires évolutives, laryngites tuberculeuses, salmonelloses, affections à Pfeiffer.

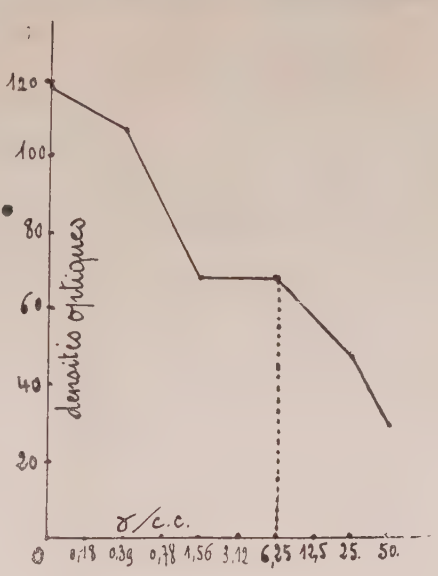
Plus rarement, lorsque les thérapeutiques ordinaires étaient mises en échec ou jugées par trop inopérantes dans le cas d'affections graves, on appliquait la streptomycine ; c'est ainsi que des brucelloses, des colibacilloses, une pneumopathie à bacille de Friedlander, des septicémies et septicopyohémies à staphylocoques furent traitées par cet antibiotique.

Ces divers cas nous ont permis d'étalonner la sensibilité in vitro de quelques souches microbiennes que nous rapportons plus loin (p. 122).

1) ETUDE TURBIDIMETRIQUE DE LA CROISSANCE DES GERMES

a) *Intérêt de l'étude turbidimétrique de la croissance des germes :*

L'étude de la densité optique des croissances de germes présente un intérêt capital. Par exemple, la souche du Ri... paraissait inhibée à partir de 6,25 gamma, la courbe turbidimétrique montre que cette inhibition n'est que partielle puisque la croissance est encore manifeste à 50 gamma par cc.



b) *Remarques sur l'étude turbidimétrique de la croissance des germes :*

Les variations de l'opacité témoignant de la croissance microbienne, dans les gammes de titrage de la sensibilité d'une souche à la streptomycine, nous ont conduit à l'étudier par turbidimétrie.

La courbe représentative de la croissance d'un germe en fonction des concentrations d'antibiotique affecte, pour les doses sous-bactériostatiques des ondulations successives rappelant une sinusoïde, la croissance paraissant exaltée pour certaines concentrations et légèrement inhibées pour des concentrations voisines.

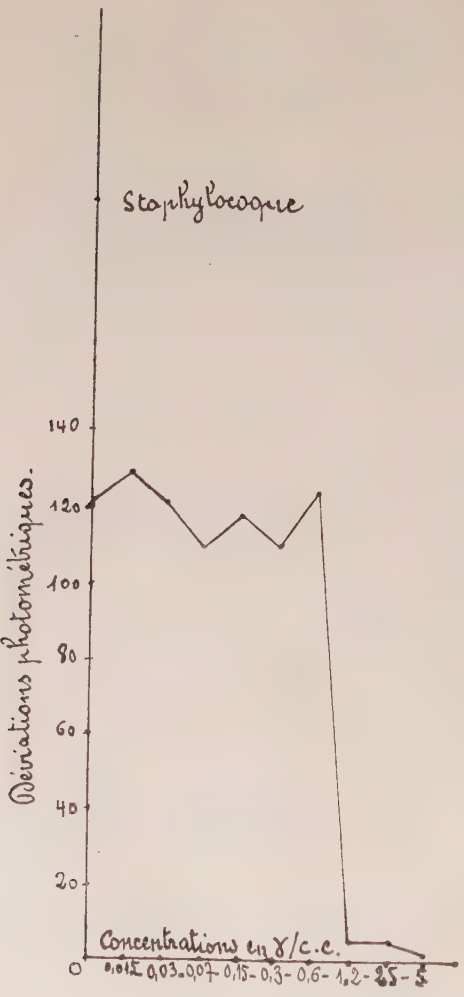
Si l'on considère la courbe turbidimétrique de la croissance d'un germe streptomycino-dépendant, rapportée à propos de l'étude de la sensibilité du B.K., on constate qu'elle affecte un aspect analogue, la pousse microbienne est stimulée par l'antibiotique à certaines concentrations.

On peut supposer que la dépendance d'un germe à l'anti-

biotique n'est que l'exagération d'un phénomène paradoxal que nous venons de décrire.

Etude turbidimétrique de la sensibilité d'un germe par la méthode des dilutions sériées

L'opacité du tube titrant 0,6 gamma témoigne de la pousse microbienne, tandis que le tube contenant 1,12 gamma par cc. est limpide, témoignant de l'inhibition de la croissance du germe et mesurant la sensibilité de la souche à la streptomyc.



Les divers clochers schématisent les inégalités de la croissance microbienne selon les concentrations ; elle paraît favorisée dans le tube titrant 0,015 gamma, concentration qui semble activer la croissance de ce germe.

Ces faits sont à rapprocher de l'aspect des colonies microbiennes situées à la limite des zones d'inhibition et de croissance, lorsqu'on étudie la sensibilité d'un germe à l'antibiotique par la méthode de diffusion.

Dans cette zone, on distingue des anneaux concentriques constitués par des colonies microbiennes épaisses, séparées

par des anneaux plus clairs où les colonies apparaissent plus espacées, moins denses.

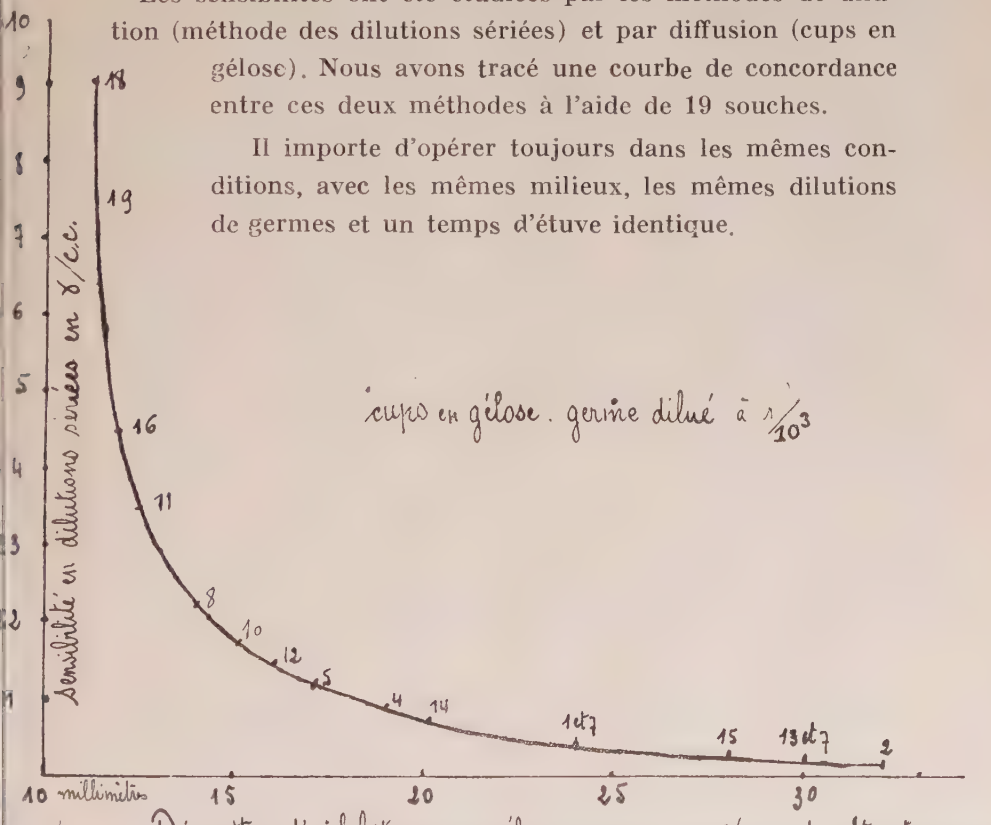
Quelle que soit la cause de ce phénomène, ses conséquences nous paraissent importantes : les concentrations sous-bactériostatiques sont susceptibles de stimuler la croissance d'un germe, ce qui constitue un non-sens pour une thérapeutique antibiotique.

On ne saurait donc trop insister sur la nécessité absolue de maintenir dans l'organisme des concentrations supérieures à la sensibilité de la souche en cause.

2) COURBE DE CONCORDANCE DE LA SENSIBILITE DES GERMES

Les sensibilités ont été étudiées par les méthodes de dilution (méthode des dilutions sériées) et par diffusion (cups en gélose). Nous avons tracé une courbe de concordance entre ces deux méthodes à l'aide de 19 souches.

Il importe d'opérer toujours dans les mêmes conditions, avec les mêmes milieux, les mêmes dilutions de germes et un temps d'étuve identique.



Nous portons en abcisse les diamètres d'inhibition obtenus par la méthode des cups, pour 0,10 cc. de la solution de streptomycine à 100 gamma par cc. Le germe est dilué au 1/1000.

En ordonnée, nous portons les sensibilités obtenues par la méthode en dilutions sériées.

SOUCHES	Cups en Gélose Diamètre en mm.	Dilutions sériées Sensibilité en gamma
1. Staphylocoque Oxford	24	0,40
2. Staphylocoque N 131	32	0,10
3. Staphylocoque Tas..., Septico-pyohémie	—	0,50
4. Staphylocoque R..., Pyohémie	19	1
5. Staphylocoque Be..., Septico-pyohémie	17	1,20
6. Staphylocoque E..., —	—	1,50
7. Staphylocoque Co..., Septicémie	24	0,40
8. Eberth	14	2,25
9. Eberth, souche B, Typhoïde	0	50
10. Para A	15	1,75
11. Para B	12,50	3,50
12. Coli-souche P	16	1,50
13. Charbon	30	0,30
14. Para B - souche L..., Angiocholite	20	0,75
15. Para B - souche C..., Paratyphoïde	28	0,30
16. Subtilis M.	12	4,50
17. Subtilis N, Ag	30	0,25
18. Proteus	11	9
19. Pyocyanique	11,5	7,50

Ces germes n'ont jamais été au contact de l'antibiotique.

Cette courbe montre que le diamètre d'inhibition est fonction de la sensibilité de la souche étudiée en dilutions sériées.

Pour les germes résistants, type la souche Eberth B., le diamètre d'inhibition est nul, il est faible pour la souche de bacil-

le subtilis M, dont la sensibilité est élevée ; la courbe devient tangente à l'axe des ordonnées.

Pour les germes sensibles, au contraire, les diamètres sont importants, elle devient tangente à l'axe des abcisses.

Cette courbe affecte un tracé hyperbolique.

On définit ainsi une courbe de sensibilité des germes à un antibiotique, par la correspondance entre les diamètres d'inhibition obtenus par les méthodes de diffusion et les concentrations inhibitrices les plus faibles en dilutions sériées.

Dès lors, pour connaître la sensibilité d'un germe, il suffit de mesurer le diamètre d'inhibition obtenu pour une concentration définie de streptomycine, de le rapporter sur la courbe des correspondances : la sensibilité se lit sur l'axe des ordonnées. Cette méthode rapide et relativement peu délicate permet en clinique un dosage, approximatif certes, mais suffisant de la sensibilité d'un germe.

Des courbes analogues, mais réalisées à l'aide de nombreuses souches, ont été publiées par divers auteurs, Buggs et collaborateurs (35), 220 souches — Miller et Banhoff (228-229-230), 96 souches de méningocoques — Klein (160-161), 100 souches — Chabbert (45), 85 souches.

Ces auteurs concluent à la variabilité de la sensibilité des souches microbiennes ; dans une même espèce des souches présentent une résistance très marquée, alors que d'autres souches sont sensibles.

Il existe, en outre, un pourcentage élevé de souches résistantes : 57 % pour Klein par exemple.

Ces faits sont suffisants pour justifier l'utilisation du test de sensibilité des germes et il appartient au laboratoire d'éclairer constamment le thérapeute sur ce point.

Cependant, nous allons voir que la connaissance du facteur sensibilité ne peut expliquer tous les échecs d'une thérapeutique streptomycinée, même bien conduite et contrôlée soigneusement par le laboratoire.

Bien que certaines de nos souches se révèlent sensibles in vitro à la streptomycine, les résultats cliniques ne furent pas

parallèles; par exemple, quoique les germes du genre Brucella soient sensibles in vitro, il ne semble pas que cette médication ait modifié le pronostic des brucelloses humaines.

Même observation à propos des infections à salmonella, où fut invoqué le développement d'une résistance secondaire acquise au cours du traitement par un germe pourtant sensible tant in vitro que chez l'animal d'expérience.

Afin d'expliquer ces non-concordances, Reimann, Elias et Price (254) démontrent que la souche demeure sensible et invoquent une inhibition de l'agent antibactérien par une substance inconnue ou des autolysats tissulaires de réaction acide.

L'observation de Mme De... concernant une angiocholite à Para B illustre ce fait.

De même, dans un cas de septicopyohémie à staphylocoque, avec ostéomyélite vertébrale, bien que le germe soit très sensible à la streptomycine, celle-ci n'eut aucune action spectaculaire. Il faut invoquer la notion de repaire anatomique. Ces repaires demeurent parfois inaccessibles à la grosse molécule de streptomycine qui diffuse peu, voire pas du tout dans ces foyers et reste sans action sur les germes.

Nous allons voir que les infections à bacilles de Koch posent les mêmes problèmes.

b) SENSIBILITE DES SOUCHES DE B. K. A LA STREPTOMYCINE

Nous rapportons brièvement, avant d'exposer nos résultats, les sensibilités de souches de B. K. à la streptomycine, données par les auteurs.

Fisher (106), étalonnant vingt souches sur milieu de Dubos et Davis et sur milieu de Youmans, trouvent que 1 gamma de streptomycine par cc. de milieu suffit à produire l'effet inhibiteur.

Vogelsang, avec le liquide de Sauton, constate, par l'examen quotidien, que la croissance d'une souche de B.C.G. est normale aux concentrations de 1 gamma, diminuée avec 2 gamma par centicube et à peine visible avec 5 gamma par centicube.

Barski (11) assiste à la suppression de la pullulation d'une souche de B.C.G. dans un milieu de culture contenant des fragments de rate et de tissus mortifiés, lorsqu'on additionne ce milieu de streptomycine.

Youmans et Feldman (298-299-303), ayant étudié un grand nombre de souches de B. K. humaines, concluent que la majorité sont inhibées par des doses allant de 0,09 à 0,78 gamma de streptomycine par cc.

Youmans et Karlson (300) étudient 131 souches de B.K. isolées avant le traitement, voient leur croissance inhibée par des concentrations inférieures à 2 gamma par cc. dans 99 % des cas, le chiffre moyen mesurant la dose inhibitrice étant 1,56 gamma par centicube.

Middlebrook et Yegian (226), étudiant 50 souches, montrent que leur croissance en milieu de Dubos est inhibée partiellement par 0,50 gamma de streptomycine par cc. de milieu et complètement par 1 gamma, ainsi que Wolinsky et Steenken (296), qui donnent 0,8 gamma par cc. comme dose inhibitrice en milieu de Dubos et de Proskauer et Beck.

En France différents auteurs ont contribué à mettre au point l'étude de la sensibilité des B.K. à la streptomycine.

Nous citerons E. Bernard et Kreis (19), Gernez-Rieux, Breton, Delwaulle, Sevin (120), Bretey, Coletsos et Boisvert (30), Froyez et Galland, de Beck (114) enfin F. Tison (284-285), qui obtiennent, par diverses techniques, des résultats comparables à ceux des auteurs américains.

1) Etude turbidimétrique de la croissance des B. K.

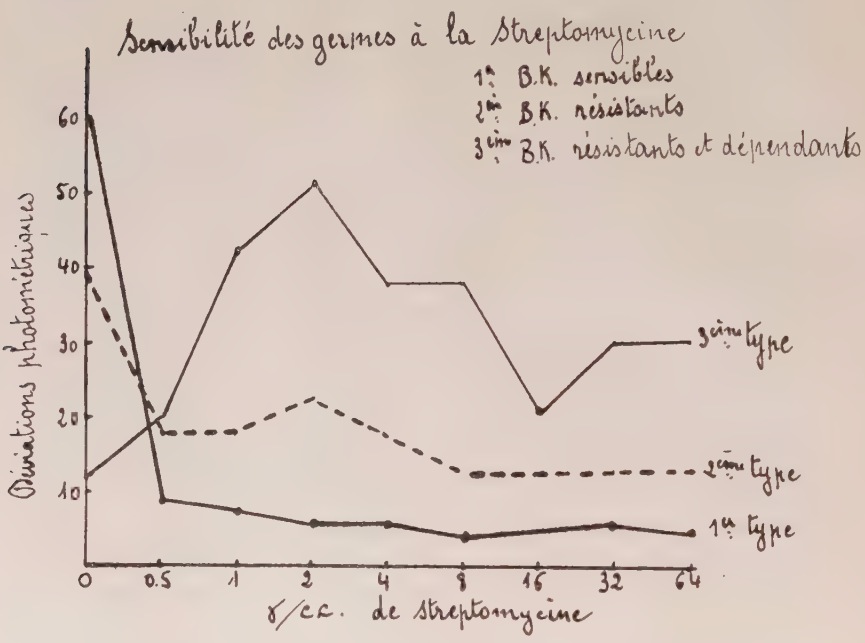
Nous avons mesuré la densité optique des pousses microbiennes dans le tubes de Dubos. Nous observons trois types de courbes :

Premier type : le germe est streptomycino-sensible ;

Deuxième type : le germe est streptomycino-résistant. La courbe présente une ondulation, puis demeure parallèle à

l'axe des abcisses. Son ordonnée élevée témoigne de la croissance microbienne.

Troisième type : le germe est streptomycino-dépendant. On remarque l'aspect ascendant de la courbe. La croissance dans le tube témoin est moins intense que dans les tubes contenant l'antibiotique. La pousse microbienne augmente — fait paradoxal — avec la concentration du milieu en antibiotique. Puis, à partir d'un certain taux, la courbe oscille, témoignant la juxtaposition de concentrations inhibitrices ou favorisantes ; enfin la courbe devient parallèle à l'axe des abcisses.



Dans la première portion de courbe, la streptomycine agit comme un facteur de croissance à l'égard du B.K. : dans la zone accidentée, les phénomènes d'inhibition et de croissance se justaposent.

La streptomycino-dépendance a été déjà décrite par Tison (284), par E. Bernard et Kreiss (19), qui estiment à 2 % environ le nombre de souches dépendantes.

Nous avons vu, à propos de l'étude turbidimétrique de la croissance des germes que la dépendance ne semblait être que l'exagération d'un phénomène général de leur croissance en présence de concentrations sous-bactériostatiques de streptomycine.

Une souche microbienne placée dans ces zones paradoxales, soumise in vivo aux variations incessantes de la concentration du milieu en antibiotique, ne peut-elle pas progressivement étendre sa zone paradoxale et devenir une souche dépendante et résistante ?

Quoiqu'il en soit, on conçoit en thérapeutique la nécessité formelle de maintenir la concentration du milieu au delà de ces zones. L'utilisation de doses élevées et la nécessité du contrôle biologique durant les traitements streptomycinés trouvent ici encore une justification.

2) Résistance des souches de B. K.

SOUCHES	PROVENANCE	SENSIBILITE
Mme Au. (déjà traitée)	Crachats	+ de 500,00 gamma
— — (après P.A.S.)	—	+ de 500,00 —
Ay. (déjà traité)	—	+ de 100,00 —
Br. — —	—	+ de 412,00 —
Del. — —	—	lépendant et résistant
Gra. — —	—	64,00 gamma
Fo. — —	Urine	18,00 —
Dan. — —	L. C. R.	0,75 —
Jac. — —	L. C. R.	50,00 —
Wil. — —	L. C. R.	6,00 —
Mai. — —	L. C. R.	+ de 100,00 —
Mme Ar. (av. traitem.)	L. C. R.	0,30 —
Su. (non traité)	L. C. R.	0,60 —
Ch. — —	L. C. R.	0,20 —
Fer. — —	L. C. R.	0,50 —
Fr. — —	L. C. R.	0,76 —
Hu. — —	L. C. R.	0,39 —
Mey — —	L. C. R.	0,75 —
No. — —	L. C. R.	0,50 —
Du. — —	L. C. R.	0,19 —
La. — —	L. C. R.	0,19 —
Vig. — —	L. C. R.	1,50 —
Far. — —	Liq. pleural.	1,20 —
Ri. (déjà traité)	Plus d'abcès	+ de 50,00 —
Dej. (non traité)	— —	0,78 —
Bar. — —	— —	0,19 —
Rio. — —	— —	0,78 —
Fe. — —	— —	0,78 —
B.C.G.		0,80 —

3) Commentaires

Notre étude porte sur 29 souches de B. K. testées selon la technique des dilutions sériées en milieu de Dubos dont nous venons de préciser la préparation.

Dix souches, soit un peu plus du tiers des souches étudiées, présentent une résistance marquée à la streptomycine ; dix-huit souches sont sensibles à de faibles concentrations, inférieures ou égales à 1,50 gamma par cc. ; une souche présente une résistance modérée.

a) *Les souches résistantes :*

Dix souches concernent des sujets déjà traités par la streptomycine ou en cours de traitement.

Six souches, dont une dépendante, furent isolées à partir de produits d'expectoration de pulmonaires traités depuis plus de deux mois ; la streptomycine n'avait plus d'action sur les signes cliniques et radiologiques. Nous devions trouver dans la résistance élevée des germes les raisons de ces échecs.

Une souche résistante fut isolée à partir de l'urine de Mme Fo..., traitée depuis plus d'un mois pour une tuberculose rénale bi-latérale. La thérapeutique streptomycinée n'eut aucun effet sur l'évolution de l'affection.

Une souche, souche Ri..., provenant d'un abcès froid d'un jeune malade déjà traité, résiste à de fortes concentrations d'antibiotique.

Enfin, deux souches résistantes, souche Ja... et souche Ma..., concernent des B.K. isolés du L.C.R. de sujets atteints de méningite.

La souche de la malade Mai... pousse en Dubos, malgré des concentrations de plus de 100 gamma par cc. de streptomycine. Traitée une première fois par la streptomycine pour une pleurésie séro-fibrineuse, puis à nouveau 3 mois après lors de la création d'un pneumothorax, cette malade succomba un an plus tard d'une méningite sur laquelle la streptomycine fut sans action. La résistance élevée de la souche en explique la raison.

La souche du malade Wil..., ensemencement méningé au cours d'une tuberculose excavée, présente une résistance modérée à l'antibiotique, 6 gamma par cc. Cette souche fut isolée à partir du L.C.R., deux mois environ après le début de traitement. On assista à une amélioration temporaire, puis l'évolution de la méningite reprit malgré la thérapeutique.

La souche de M. Jac... résistait d'emblée à des concentrations de 50 gamma par cc. La thérapeutique streptomycinée fut sans action.

b) *Les souches sensibles :*

Parmi les 18 souches sensibles, 11 souches concernent des germes isolés à partir de L.C.R. de sujets atteints de méningite tuberculeuse.

Dix souches furent isolées avant la mise en œuvre de la thérapeutique, qui fut efficace.

Par contre, une souche (Mme Da...) fut isolée au cours d'une rechute de méningite traitée par voie générale durant trois mois par de faibles doses journalières et quelques injections intra-rachidiennes; cette malade, dont l'arrêt du traitement date actuellement de dix mois, peut être considérée comme guérie.

Les B.K. paraissent garder leur sensibilité intacte dans les espaces sous-arachnoïdiens, malgré les traitements prolongés. L'observation clinique confirme cette opinion ; la reprise des traitements lors des rechutes de méningite a toujours une action favorable.

Les autres souches sensibles concernent des germes isolés de pus d'abcès froids (4 souches), de produits d'expectoration (1 souche), de liquide pleural (1 souche) ; ces malades n'avaient jamais reçu de streptomycine.

Enfin, une souche de B.C.G. se montre sensible au-dessous de 0,80 gamma par cc.

Les bacilles de Koch jouissent d'une grande sensibilité vis-à-vis de la streptomycine ; cependant, ils peuvent perdre cette sensibilité au cours du traitement et devenir résistants ; cette

éventualité rare au cours des méningites, nous paraît très fréquente dans le cas de tuberculose pulmonaire, rénale, d'abcès froids ; nous ne pouvons donner une statistique de souches devenues résistantes, n'ayant étudié que les B. K. de sujets obéissant mal au traitement et chez lesquels il convenait de suspecter cette complication.

Les souches primitivement résistantes sont rares, 1 sur 29.

La streptomycino-résistance est stable, irréversible. Dans le cas de Mme Au..., elle ne fut point influencée par une cure de P.A.S.

Des résultats analogues publiés confirment cette étude. Youmans, Willinston et Hinshaw (303) ont constaté que chez huit malades sur douze, traités par la streptomycine pour tuberculose pulmonaire excavée, la résistance des souches de B.K. est multipliée par 500 ou 1000 au bout d'un certain temps.

Youmans, Feldman et Hinshaw (303) recueillent des germes provenant de crachats, d'urine ou de L.C.R. de tuberculeux dont deux n'ont pas été traités par la streptomycine. Alors que les souches des sujets non traités ont une sensibilité comprise entre 0,08 et 0,62 gamma par cc., les chiffres trouvés chez les sujets traités sont variables. 9 souches ont acquis une résistance de 25 à 2000 gamma par cc., 2 souches seulement demeurent sensibles.

Bernstein, d'Eposo et Steenken (38) constatent qu'après 120 jours de traitement, 84 % des B.K. de pulmonaires résistent à plus de 10 gamma, dont les deux-tiers à plus de 1.000 gamma.

Barnwell, Bunn et Walker (37) observent qu'après un traitement variant de 60 à 90 jours, 65 % des souches isolées résistent à plus de 10 gamma. Ce taux s'élève à 79 % après un traitement de plus de 120 jours.

D'importantes études de Saenz et Canetti (260), de Gernez-Rieux (124), de Howard (148), de Howlett (146) apportent des documents de même ordre.

Bernard (E.), Kreiss et Mlle Lotte (25), utilisant le milieu de Jensen pour étudier la sensibilité de germes isolés chez des tuberculeux pulmonaires atteints de formes fibro-caséeuses ou ulcéro-caséeuses évolutives, constatent la présence de souches streptomycino-résistantes à plus de 10 gamma après 60 jours de traitement dans 25 % des cas et, dans 70 % des cas, après 90 jours. Par contre, ces auteurs ne retrouvent, au cours du traitement des méningites, que 2 souches résistantes sur 11 souches étudiées, bien que les malades eussent déjà reçu un traitement prolongé.

Chez un même malade, ces auteurs ont observé des différences considérables au point de vue de la résistance, allant de 1 à 1000 gamma, entre des souches provenant de lésions différentes, pulmonaires d'une part, méningées, ganglionnaires et pleurales d'autre part.

L'observation de Bariety, Vittoz et Flurin (10) concernant un malade de 21 ans est identique. Ce malade présentait deux localisations tuberculeuses, une pulmonaire et une méningée ; la sensibilité des B.K. était dissociée, les B.K. pulmonaires résistaient à des concentrations de 1000 gamma par cc., les B.K. méningés étaient inhibés par des concentrations de 2 gamma par cc.

Bien des hypothèses ont été émises pour expliquer le développement des résistances ; nous ne ferons que les citer :

Les uns en appellent aux thérapeutiques mal conduites, aux doses insuffisantes, aux injections trop espacées.

D'autres invoquent l'hétérogénéité d'une souche au point de vue de la résistance des germes à l'antibiotique.

D'autres auteurs enfin font intervenir un facteur tissulaire modifiant la sensibilité du germe ou abaissant le potentiel antibiotique du produit.

Howlet, s'appuyant sur la fréquence de la résistance dans les lésions ulcéro-caséeuses, suppose que le caséum favorise la production des souches résistantes.

Nous rappelons l'action favorisante de la streptomycine sur la croissance des germes aux doses sous-bactériostatiques et

l'incidence qu'elle peut avoir dans le développement de la résistance secondaire. Ces concentrations, réalisées dans les foyers enkystés peu perméables, pourraient nous expliquer ce phénomène.

c) *Déductions thérapeutiques :*

De cette étude, on peut déduire que la streptomycine est un produit actif sur la tuberculose, mais ses indications doivent être limitées et son application contrôlée.

La cure de streptomycine peut, sans inconvénient, être très prolongée dans la méningite tuberculeuse, puisque les germes, dans la plupart des cas, demeurent sensibles. En cas de rechute, le traitement peut et doit être repris sans délai.

Son application s'impose dans les granulies ; elle en constitue la seule thérapeutique efficace.

Par contre, dans la tuberculose pulmonaire non miliaire, le développement rapide et durable de la streptomycinorésistance en restreint les indications aux seuls cas où cette thérapeutique s'avère indispensable. Le contrôle de la sensibilité du germe s'imposera si le traitement est prolongé ou s'il est repris.

CHAPITRE IV

DONNÉES BIOLOGIQUES ET RÉSULTATS THÉRAPEUTIQUES

Lorsqu'on transpose en clinique les résultats obtenus au laboratoire, on est obligé de reconnaître que les facteurs régissant la bactériostase, sensibilité du germe, concentration du milieu, n'expliquent pas tous les échecs de la thérapeutique.

S'il existe un parallélisme étroit entre les données biologiques et l'évolution clinique dans le cas de germes résistants, par contre, les discordances sont nombreuses dans le cas des germes sensibles. Nous n'avons jamais vu, dans le service de M. le Professeur Damade, une guérison ou une amélioration chez des sujets dont les germes étaient résistants. Lorsque les germes sont sensibles, le traitement jugule généralement l'infection; toutefois, il est des cas où la thérapeutique est inopérante, sans que les données biologiques puissent en donner la cause.

On a coutume d'observer des inégalités dans les résultats thérapeutiques suivant les sujets, les localisations de l'affection, l'aspect anatomo-pathologique des lésions. Nous avons rapporté des observations dans lesquelles on montrait l'inefficacité de l'antibiotique sur des germes pourtant fort sensibles in vitro et son action favorable sur des infections à germes plus résistants.

Nous avons souligné la fréquence des résistances acquises au cours de la thérapeutique d'une tuberculose pulmonaire, alors que les reprises de méningite tuberculeuse demeurent sensibles à l'action de la streptomycine et que les méningites survenues au cours ou après des granulies comportent un pronostic sombre.

Nous avons observé, dans le service de M. le Professeur Damade, chez deux sujets traités plus de six mois par la streptomycine pour méningite tuberculeuse, l'apparition d'abcès froids thoraciques, alors que la méningite était bien jugulée.

Les observations de Bariéty, Vittoz et Flurin (10), de Bernard (Et.) (16) concernant des cas de sensibilités dissociées, de germes isolés chez un même malade à partir de foyers différents, apportent un argument supplémentaire en faveur de la complexité du problème.

Diverses hypothèses ont été émises pour expliquer ces résultats paradoxaux et ces échecs thérapeutiques.

Certains auteurs, avec Debré R. (75), contestent le parallélisme entre les sensibilités in vitro et in vivo d'une souche microbienne. Il est fort possible que des dissociations de ce genre existent ; elles constituent une minorité dont nous nous efforçons de chercher la cause. Aussi Gernez-Rieux, Breton, Delwaulle et Sevin (120) préconisent les testages sur l'animal.

Bernard Et., Kreiss et Mme Lotte (25), puis Bariéty, Vittoz et Flurin (10) pensent qu'un facteur local interviendrait et modifierait le comportement du germe à l'égard de l'antibiotique.

Pour Martin R. (209), le germe peut se retrancher au niveau de repaires anatomiques, foyers pulmonaires, foyers pyohémiques, cavités séreuses, articulaires, dans des organisations fibreuses mals irriguées où le germe est à l'abri de l'antibiotique. La thérapeutique sera sans influence sur ces germes capables d'évoluer ultérieurement.

Ce facteur anatomique pourrait expliquer certains faits obscurs dans la méningite tuberculeuse ; on sait, en effet,

d'après les travaux des Américains Adcock et Hettig (3), de Baggenstoss (9), de Feldman et Hinshaw (102), portant sur des sujets morts de méningite au cours de la thérapeutique, que la streptomycine ne pénètre pas au niveau du cerveau. Les examens nécropsiques, réalisés dans le service de M. le Professeur Damade, ont montré d'autre part la présence de follicules tuberculeux intra cérébraux dont l'éclosion met en liberté dans les espaces sous-arachnoïdiens des bacilles n'ayant jamais eu de contact avec l'antibiotique. L'éclosion de ces foyers provoque la rechute ; en réalité, il s'agit d'une méningite itérative.

Cette manière de penser trouve sa justification dans l'efficacité de la reprise du traitement au cours des méningites itératives et la rareté de la résistance des B.K. isolés du L.C.R. lors de ces rechutes.

La notion de repaires anatomiques, inaccessibles à l'antibiotique, explique également l'inefficacité de cette thérapeutique dans les pyohémies.

Une autre cause d'échec peut être due à la présence, au sein d'une population microbienne sensible, de germes d'emblée résistants et qui échappent au testage. Le traitement antibiotique neutralise les germes sensibles mais n'empêche pas le développement des résistants. Ainsi, y aurait-il intérêt à faire une nouvelle étude de la sensibilité quelques jours après le début du traitement.

Les échecs thérapeutiques doivent être attribués à d'autres facteurs, parmi lesquels l'état général du malade est des plus importants.

M. le Professeur Damade et le Dr Dulond de Rosnay (74) ont signalé, au cours des journées de la streptomycine de Bordeaux, en octobre 1949, l'importance de l'état général du malade au cours de la streptomycinothérapie.

Ce facteur est d'autant plus important que le traitement est prolongé ; en particulier, chez les sujets atteints de méningite tuberculeuse, qui demeurent parfois longtemps coma-

teux, les désordres métaboliques graves conditionnent en partie le pronostic. Ils consistent :

en abaissement du taux des protides ;
en abaissement du taux des chlorures ;
en abaissement du taux du calcium.

La chute des protides au-dessous de 50 gr. se traduit immédiatement par l'apparition d'une escharre. Cet effondrement porte surtout sur la sérine, tandis que le taux des globulines est à peu près conservé.

D'autre part, nous avons noté, d'une manière à peu près constante, la diminution progressive de la masse sanguine chez ces malades allant vers la cachexie. Evidemment, les méthodes de dosage de la masse sanguine peuvent prêter à de nombreuses critiques; ce ne sont que des méthodes approximatives ; mais la succession de dosages chez un même individu nous a montré une diminution de la masse sanguine précédant toute altération décelable cliniquement dans l'état général.

Enfin, nous avons grossièrement recherché, chez plusieurs de nos malades, le taux de la vitamine « C », que nous avons toujours trouvé diminué.

De même, les douleurs à types de névrites, observées chez des malades longtemps soumis à des injections intra-rachidiennes, sont très améliorées par l'administration de complexes vitaminiques « B ».

De ces notions de laboratoire découlent des indications thérapeutiques qui sont à notre avis capitales. Il faut considérer ces malades comme des carencés. Ces malades sont non seulement des carencés, mais encore des dénutris, comme le montre l'abaissement du taux des protéines. Enfin, la diminution de leur masse sanguine montre que ce sont des « choqués chroniques », suivant l'expression de Jean Gosset.

Dans le service de M. le Professeur Damade, ces malades sont largement vitaminés à l'aide de complexes vitaminiques variés. On essaye de remonter leur volume sanguin en procé-

dant par des transfusions, des perfusions de sérum ou de plasma ; de relever leur protidémie, ce qui entraîne une cicatrisation rapide des escharres. En somme, cette thérapeutique tend à éviter l'état de choc irréversible.

Les réactions naturelles de défense paraissent également jouer un grand rôle. Récemment, Bourguignon (33) a montré les échecs de l'action de la streptomycine sur l'infection expérimentale de cobayes anergiques: les bacilles semblent se multiplier malgré l'antibiotique, tant que l'allergie n'est pas apparue. Par contre, chez des cobayes allergiques, la streptomycine est remarquable d'efficacité.

Chez des sujets morts de méningite à la suite d'accidents encéphalitiques, l'examen nécropsique révèle souvent la présence de granulations tuberculeuses au niveau des artères cérébrales responsables de lésions irréversibles.

Les inégalités des résultats de la thérapeutique des méningites tuberculeuses, la gravité des méningites survenant après une granulie, les dissociations de sensibilité de germes provenant de divers foyers chez un même individu, nous ont conduit à envisager le problème sous un autre point de vue.

La généralisation bacillaire de la période secondaire entraîne dans l'organisme des localisations multiples de bacilles de Koch constituant des foyers capables d'évoluer ultérieurement.

Si l'essaimage se fait à partir de germes résistants ou devenus résistants au cours de la thérapeutique, il est évident que la streptomycine sera ultérieurement sans action sur l'évolution de ces foyers ; il en est tout autrement avec des germes sensibles.

On explique la gravité des méningites accompagnant ou succédant à une miliaire, les germes embolisés dans les espaces sous-arachnoïdiens pouvant avoir perdu leur sensibilité au cours du traitement.

On s'explique également les dissociations de sensibilité des germes chez un même individu traité par l'antibiotique. Les

foyers constitués avant le traitement, véritables foyers exclus, libèrent, s'ils évoluent, des bacilles ayant conservé leur sensibilité primitive, alors que les germes de foyers en activité durant la thérapeutique peuvent devenir résistants, surtout au niveau du poumon.

Si l'on admet cette hypothèse, on conçoît l'intérêt de ne point administrer la streptomycine avant la période septicémique dans les primo-infections simples et au cours des manifestations de la période secondaire, curables par d'autres thérapeutiques (pleurésies séro-fibrineuses, par exemple).

Ces divers facteurs que nous venons d'analyser, repaires anatomiques, facteurs tissulaires, séquelles, généralisation du stade secondaire et l'état général du malade, conditionnent en partie la thérapeutique. Ils expliquent les discordances qui peuvent exister entre les données du laboratoire et les résultats cliniques et, par là même, confirment la valeur des tests biologiques.

CHAPITRE V

CONCLUSIONS

La contribution du laboratoire au cours de la streptomycinothérapie semble devoir s'exercer sur deux points que nous nous sommes efforcés d'étudier :

1° *La circulation de la streptomycine dans l'organisme.*

Nous avons, parmi les techniques connues, essayé de mettre en valeur celles qui nous paraissent les plus appropriées à l'usage d'un laboratoire de clinique. La méthode à la phtaléine du phénol pour les dosages de liquides organiques stériles, la méthode des cups en gélose, la méthode de HEATLY, les méthodes chimiques, en particulier la méthode de SCUDI pour les urines, nous ont permis de préciser chez nos malades la circulation de la streptomycine dans l'organisme.

De ces études schématisées par des courbes de streptomycinémie, après injections de doses diverses, on peut conclure que le niveau et la durée de la concentration sanguine en antibiotique dépendent de la dose injectée ; en particulier, les injections de 1 gramme réalisent une aire bactériostatique beaucoup plus étendue que l'injection de la même dose fractionnée, toutes les quatre heures.

Depuis plus de deux ans, M. le Professeur Damade utilise dans son service d'adultes les injection de un gramme toutes les douze heures, avec des résultats comparables aux meilleures statistiques.

Une autre notion se dégage de ces études de streptomycinémie : l'élimination de l'antibiotique varie suivant les sujets, et l'état du parenchyme rénal dont les altérations entraînent la rétention de la streptomycine dans l'orgaganisme et parallèlement une diminution du coefficient d'élimination urinaire. On ne saurait trop insister sur la nécessité du contrôle biologique de la concentration sanguine, afin de prévenir les accidents toxiques par excès d'antibiotique, et les insuccès thérapeutiques par suite d'une élimination trop rapide.

Les contrôles des concentrations rachidiennes au cours de la thérapeutique streptomycinée ont permis à M. le Professeur Damade, au Docteur Dulong de Rosnay et à nous-même de mettre en évidence l'imperméabilité de la méninge saine et la perméabilité de la méninge tuberculisée.

Cette notion est capitale pour le diagnostic précoce de la méningite tuberculeuse et en cours d'évolution pour préciser le degré d'infection de la méninge. Elle possède aussi un intérêt thérapeutique considérable puisqu'elle démontre l'absolue nécessité d'associer aux injections intra-musculaires, traitement de base, des injections intra-rachidiennes, traitement d'appoint.

De plus, le rythme des injections sera multiplié durant les périodes où la perméabilité est diminuée : au début de la méningite, ce sera le traitement d'attaque; lorsque le processus infectieux régresse, ce sera le traitement de consolidation.

Cette doctrine thérapeutique de la méningite tuberculeuse par la streptomycine est appliquée depuis deux ans au Centre de Bordeaux. Les statistiques récemment publiées en justifient le bien-fondé.

2° *La sensibilité du germe à l'antibiotique :*

Après avoir précisé les méthodes de dosage de la sensibilité d'un germe à la streptomycine, et en particulier la méthode utilisée pour les bacilles de Koch — méthode en dilutions sériées en milieu de Dubos, — nous rapportons la sensibilité de quelques souches isolées chez des malades.

De cette étude, quatre notions se dégagent :

1° La sensibilité varie, non seulement selon les espèces microbiennes, mais aussi selon les souches ;

2° des souches primitivement sensibles peuvent secondairement devenir résistantes à l'antibiotique ;

3° la croissance des germes peut être favorisée par la présence de streptomycine ; ces souches sont dites dépendantes. Ce phénomène paradoxal ne semble être que l'exagération d'un phénomène général de la croissance des germes, qui paraît favorisée par certaines concentrations sous-bactériostatiques ;

4° In vitro, les bacilles tuberculeux sont parmi les plus sensibles.

La connaissance du facteur germe constitue donc un élément précieux pour régler les modalités du traitement.

S'exerçant sur ces deux points, le laboratoire permet de préciser les indications, la technique de cette thérapeutique efficace, mais parfois dangereuse si elle n'est pas sérieusement contrôlée.

Tels sont à notre avis les services que peut rendre le laboratoire dans la conduite des traitements par la streptomycine. Evidemment, ils ne font que compléter les données cliniques et fournir l'explication de certains échecs. Mais nous pensons qu'en s'astreignant à un contrôle biologique suivi des malades traités ou pourra préciser les indications et la technique d'emploi de l'antibiotique, qui est une arme admirable, mais à double tranchant.

SENSIBILITE DE DIVERSES ESPECES MICROBIENNES A LA STREPTOMYCINE

d'après MURRAY, PAINE et FINLAND (236)

ESPECES	Sensibilités rapportées (Unités/cm3)	Sensibilité habituelle (Unités/cm3)
Actinomyces bovis	4,0	«
Aerobacter aerogenes	0,5-128,0	6,25
— cloacae	0,8	«
Bacillus anthracis	0,5	«
— cereus	0,8-2,0	
— megatherium	0,25-8,0	
— mesentericus	1,67	«
— myoïdes	0,1-3,8	«
— paracolon	25,0	
— subtilis	0,1-128,0	1.8
Brucella abortus	0,5-4,0	«
— melitensis	0,5-2,0	«
— suis	0,5-3,0	«
Clostridium butyricum	3,0-8,34	«
— histolyticum	36,0	«
— perfringens	102,0	Sup. à 104,0
— sordelli	102,0	Sup. à 105,0
— tetani	102,0	Sup. à 104,0
— welchii	136,0	«
Coccidies immitis	113,0	Sup. à 300,0
Coryn. dipteriae	0,4-4,0	«
Diphteroïdes	1,0-128,0	«
Diplococcus pneumoniae	4,0-50,0	«
Eberthella typhose	1,0-120,0	1,0-16,0
— para A	24,0	«
— para B	24,0-50,0	«
— para C	50,0	«
Erysipllothrix muriseptica	2,5	«
Escherichia coli	0,3-128,0	Inf. à 8,0
— communior	1,0-4,0	«
Haemophilus ducrii	1,0-5,0	«
— hemolyticus	0,8-3,0	«
— influenzae	1,0-50,0	1,0-5,0
— parainfluenzae	2,5	«
— pertussis	1,0-15,0	1,0-3,0

ESPECES	Sensibilités rapportées (Unités/cm3)	Sensibilité habituelle (Unités/cm3)
Histoplasma capsulatum	Sup. à 2500,0	»
Klebsiella ozeniae	0,2-1,5	»
— pneumoniae	0,2-128,0	0,6-8,0
— granulomatis	0,4	»
Disterella monocytogenes	2,5	»
Malleomyces mallei	10,0 sup. à 10,0	»
Mycobacterium phlei	0,12	»
— tuberculosis av.	10,0-50,0	»
— — hum	0,1-1,0	»
— — B. C. G.	2,0	»
Neisseria catarrhalis	1,0-4,0	10,0-15,0
— gonorrheae	5,0-40,0	10,0-15,0
— intracellularis	1,0-40,0	»
eocardia	4,0-12,0	»
Pasteurella aviseptica	150,0	»
— lepiseptica	0,25-2,5	»
— pestis	0,5-1,5	»
— tula rensis	0,1-0,3	»
Phytomonas pruni	0,25	»
Proteus morgani	1,0-128,0	8,0-50,0
— vulgaris	0,4-128,0	8,0-50,0
Pseudomonas aeruginosa	2,0-200,0	4,0-25,0
Salmonella (espèces variées)	4,0-120,0	4,0-32,0
Sarcina lutea	0,25	»
Serratia marcescens	1,0-64,0	»
Shigella (espèces variées)	0,2-8,0	3,0-7,0
Staphylococcus albus	1,0-256,0	1,0-4,0
— aureus	0,5 sup. à 128,0	1,0-8,0
Streptocacillus moniliformis	1,0-1,25	»
Streptococcus foecalis	12,5-60,0	»
— hemolyticus	0,5-128,0	2,0-32,0
— non hemolyticus	1,0-128,0	1,0-8,0
— lactis	4,0	»
— putridus	116,0	»
— salivarius	5,0-25,0	»
— viridans	0,1-128,0	1,0-32,0
Streptomyces (diverses espèces)	0,4-12,5	»
Veillonella gazogènes	10,0	»
Vibrio comma	5,0 sup. à 500,0	»

SERMENT

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes Condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je donnerai mes soins à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Reconnaissant envers mes Maîtres, je tiendrai leurs enfants et ceux de mes Confrères pour des frères, et s'ils devaient apprendre la médecine ou recourir à mes soins, je les instruirai et les soignerai sans salaire ni engagement.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir heureusement de la vie et de ma profession, honoré à jamais parmi les hommes. Si je le viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire.

Vu :
Le Doyen,
Pour le Doyen,
l'assesseur

L. CHELLE

Le Président,

R. DAMADE

VU ET PERMIS D'IMPRIMER,
Bordeaux, le 8 Mai 1950

Le Recteur,

E. DELAGE

BIBLIOGRAPHIE

1. Abaza (A.). — La Streptomycine. Etude expérimentale et thérapeutique (*G. Doin et Cie,* Paris, 1947).

2. Abraham (E.P.) et Duthie (E.S.). — Effect of PH. of the medium on activity of strept. and penicillin (*Lancet* 6396, 455-459, 1946).

3. Adcock (J.D.) et Hettig (R.A.). — Absorption, distribution and excretion of strept. (*Arc. Int. Med.*, 77, 179-175, fév. 1946).

4. Alexander (H.E.) et Leidy (G.). — Influence of strept. on type b. « H. influenzae » (*Science,* 103 : 101-102, août 1946).

5. — Mode of action of strept. on type « H. influenzae ». I. Origin of resistant organisme (*J. Exp.Med.*, 85, n° 4 : 329-338, avril 1947).

6. — Mode of action of strept. on type « b H. influenzae ». II. Nature of resistant variants (*J. Exp. Med.*, 85, n° 6: 607-621, juin 1947).

7. Alture-Werber (E.) et Lœwe (L.). — A method for routine determination of strept. levels in body fluids (*Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, 63 : 277-280, nov. 1946).

8. Anderson (D.G.) et Jewell (M.). — The absorption, excretion and toxicity of streptomycin in man. (*New Engl. J. Med.*, 233 : 485-491, 25 oct. 1945).

9. Baggenstoss (A.H.), Feldman (W.H.) et Hinshaw (H.C.). — Strept. in miliary tuberculosis. Its effect on the pathological lesions of generalized miliary tuberculosis in human beings. (*Am. Rev. Tuberc.*, 55 : 54-75, janv. 1947).

10. Bariéty (M.), Vitoz (A.) et Flurin (R.). — Streptomycino resistance dissociée (*Bulletin et Mem. de la Soc. Méd. Hôp. Paris*, n° 28 et 29, 1949).

11. Barski (G.). — Action de la strept. sur l'infection tuberculeuse en culture de tissus (*Ann. Inst. Past.*, 74 : 1-12, 1948).

12. Bastin (R.). — Rôle de certains facteurs dans l'isolement par culture de bacille tuberculeux (*Comptes rendus de la Société de Biologie*, 141-176, 1947).

13. — Action du sérum sanguin et du sang total sur le départ des cultures de bacille tuberculeux (*Comptes rendus de la Société de Biologie*, 142 : 11, 1948).

14. Bellows (J.G.) et Farmer (C.J.). — Strept. in ophtalmology (*Am. J. Ophth.*, 30 : 1215-1220, oct. 1947).

15. — Strept. in ocular afections (*J.A.M.A.*, 135 : 491-496, 25 oct. 1947).

16. Bernard (E.), Kreiss (B.) et Mlle Lotte (A.). — La streptomycino-résistance (*Presse Médicale*, 66 : 965, 1949).

17. Berkman (S.), Henry (R.S.) et Housewright (R.D.). — Studies on strept. I. Factors influensing activity of strept. (*J. Bact.*, 53 : 567-574, mai 1947).

18. Berkman (S.), Henry (R.S.), Housewright (R.D.) et Henry (J.E.). — Studies on the absorption of strep. and its antagonism by salt. (*J. Bact.*, 54, 6 juil. 1947).

19. Bernard (Et.) et Kreiss (B.). — La méthode de culture sur lame de verre de bacille de Koch. Son intérêt dans la recherche de la streptomycino-résistance (*Société Etudes Scientifiques sur la tuberculose*, 11 déc. 1948).

20. Bernard (Et.) et Mlle Lotte (A.), avec collaboration de Kreis (B.), Bourdin (J.S.) et Arnaud (G.). — Rapport sur le traitement de la tuberculose par la streptomycine (étude portant sur 225 malades) (*Rev. de la Tuberculose,* 12 : 165-186, 1948).

21. Bernard (Et.) et Kreis (B.). — Action du traitement strept. immédiat mais de courte durée sur la tuberculose expérimentale du cobaye (*Rev. de la Tuberc.,* 12 : 348-354, 1948).

22. Bernard (Et.), Kreis (B) et Grumbach (F.). — Concentration en strept. du liquide céphalo-rachidien au cours du traitement par voie générale des méningites tuberculeuses (*Compt. rend. Soc. de Biol.,* 142 : 445-447, 10 avril 1948).

23. — Concentration en strept. du L.C.R. au cours du traitement par voie générale des méningites tuberculeuses (*Comptes rendus Soc. Biol.,* 142 : 448-450, 10 avril 1948.

24. Bernard (Et.), Kreis (B.), Grumbach (F.) et Netter (R.). — Concentration en strept. du sang et de l'urine après injection intramusculaire d'une dose unique de 500.000 unités. Essai d'une substance retard (Polyvinyl pyrrolidone) (*Soc. de Biol.,* 22 mai 1948, et *Presse Méd.,* 56 : 4"1, 19 juin 1948).

25. Bernard (Et.), Kreis (B.) et Lotte (A.). — Sur le traitement de la tuberculose de l'adulte par la streptomycine (*Presse Médicale,* 11 : 117, 21 février 1948).

26. Boxer (G.E.) et Jelineck (V.C.). — A chemical method for the determination of streptomycin in blood and spinal fluid (*J. Biol. Chemi.,* 170 : 491, 1947).

27. Boxer (G.E.), Jelineck (V.C.) et Leghorn (P.M.). — The Colometric determination of streptomycin in clinical preparation, urine and broth (*J. Biol. Chem.,* t. 169 : 153-165, 1947).

28. — *American Cheminal Society Chicago,* septembre 1946.

29. Bradford (W.E.) et Day (E.). — Therapeutic effect of Strept. in experimental murine pertussis (*Proc. Soc. Biol. and Med.*, 60 : 324-325, déc. 1945).

30. Bretey, Coletsos, Boisvert. — Evaluation rapide de la streptomycino-résistance par la culture directe des produits bacillifères (*Société française microbiologie*, 2 décembre 1948).

31. Brink (N.G.), Kuehl (F.A.) et Folkers (K.). — Strepomyces antibiotrices. III. Degradation of strep. to strepto-biosamine derivatives (*Science*, 102 : 506, 1945).

32. Brink (N.G.), Kuehl (F.A.), Flynn (E.H.) et Folkers (K.) — Streptomyces antibiotics. XII. The degradadation of strept. and Dihydrostrept. with methanol (*J. Am. Chem. Soc.*, 68 : 2557, déc. 1946).

33. Bourguignon (A.). — Le bacille de Koch et la streptomycine (*La Sem. des Hôpitaux*, 15 : 673, fév. 1950).

34. Brun (J.) et Vallier (S.). — Isolement direct en milieu de Dubos de souches de mycobactérium tuberculosis (*Communication à la Société de Biologie de Lyon*, le 8 décembre 1948).

35. Buggs (C.W.), Bronstein (B.), Hirshfeld (J.W.) et Pilling (M.A.). — The « in vitro » action of streptomycin on bacteria (*J.A.M.A.*, 130 : 64-67, 1946).

36. Buggs (C.W.), Pilling (M.A.), Bronstein (B.) et Hirshfeld (J.W.). — The absorption, distribution and excretion of strept. in man. (*J. Clin. investigation*, 25: 94-102, janvier 1946).

37. Barnwell (J.B.), Bunn (P.A.) et Walker (A.M.). — The effect of streptomycin upon pulmonary tuberculosis (*Am. Rev. Tuberc.*, 56 : 485-507, 1947).

38. Bernstein (S.), d'Esopo (N.D.) et Steenken (W.). — Streptomycin resistance tubercle bacilli : Incidence in patients treated with streptomycin (*Am. Rev. Tuberc.*, 58 : 344-352, 1948).

39. Callomon (F.T.), Kolmer (J.), Rule (A.M.) et Paul (A.J.). — Strept. and Diason in the treatment of experimental tuberculosis of guinea-pigs (*Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 63 : 237-240, nov. 1946.

40. Cathala (J.) et Bartin (R.). — Premiers essais de traitement par la streptomycine en médecine infantile (*Presse médicale*, 56, 11 : 118, 1948).

41. Chabbert (Y.). — Le titrage de la sensibilité microbienne aux antibiotiques (*Annales de biologie clinique :* 425, 1948).

42. — Contribution à l'étude du dosage de la pénicilline en clinique ; Application de la Méthode B. Sureau (*Thèse* 130 pages, Bordeaux, 1947, Pechade éd.).

43. — Intérêt clinique du dosage de la pénicilline dans les liquides organiques, technique de B. Sureau, ses résultats (*Anna. Inst. Biol. Clin.*, 4 : 411-416, oct. 1947).

44. — Etude du dosage de la pénicilline en clinique (*Thèse*, Bordeaux, 1947. Pechade édit., 130 p.).

45. — Le titrage de la sensibilitté microbienne aux antibiotiques (*Annales de biologie clinique*, 9 et 10 : 425, 1948).

46. Chabbert (Y.) et Sureau (B.). — Microdosage des antibiotiques. Adaptation à une méthode dérivée de la Side Celle de la technique glucosée (*P.S.P., Soc. Franc. de Microbiologie*, juillet 1947, *in Ann. Inst. Pasteur*, 73 : 1.130 - 1.135, 1947).

47. — Titrage de la streptomycine dans le sang et le liquide céphalo-rachidien (*Soc. franç. de microbiologie*, juillet 1947, *in Ann. Inst. Pasteur*, 73 : 1142-1145, 1947).

48. Chandler (V.L.), Price (C.W. et Randall (W.A.). — Contrôle et précision des dosages de pénicilline dans le sérum (*Science*, 102 : 355-356, oct. 1945).

49. Chapman (S.S.), Coriell (L.L.), Kowal (S.F.), Nelson (W.) et Downs (C.M.). — Studies on strept. therapy of. experimental tularemia in white mice (*J. Bact.*, 51 : 607, mai 1946).

50. Chavannaz (J.). — Quelques réflexions sur la streptomycine (*Mem. Acad. de Chir.*, 74: 577-578, juil. 1947).

51. Christensen (L.R.). — (*J. Gen. Physiol.*, 30.465, 60.748, 1947).

52. Clifford (W.), Price, Nielsen (Jean K.) et Welch (H.). — The estimation of streptomycin in body fluids. (*Science*, vol. 103, n° 2663 : 56, january 11, 1946).

53. Cohen (S). — Strept. and desoxyribonuclease in the studies of the properties of a bacterial virus (*J. Biol. Chem.*, 166 : 393-394, nov. 1946).

54. — (*J. Biol. Chem.*, 166 : 893, 1946.)

55. Cohn (E.J.). — Preparation and properties of serum and plasma proteins (*Journ. Am. Chem. Soc.*, 68 : 459, 1946).

56. Corper (H.J.) et Cohn (M.L.). — The tubercle bacillus and fundamental chemotherapeutic and antibiotic action (*Yale J. Biol. and Med.* 19 : 1-22, oct. 1946).

57. — Various phases of the use of strept. in tuberculosis (*J.A.M.A.*, 137 : 162-166, 22 mai 1948).

58. — The remote sustained threshold therapeutic action of strept. in tuberculosis (*Science*, 106 : 446-447, 7 nov. 1947).

59. Corper (H.J.), Cohn (M.L.) et Frey. — *Amer Rev. Tuber.*, 58 : 215, 1948).

60. Courmont (M.P.). — La streptomycino-résistance du B.K (*Société Médicale des Hôpitaux de Lyon*, 7 février 1949 ; *Presse Médicale*, 38, 11 juin 1949).

61. Damade (R.). — Le centre de streptomycine de Bordeaux (*Presse Médicale*, 11 : 127-128, 21 févr. 1948).

62. Damade (R.) et Dulong de Rosnay (Ch.). — Le traitement de la méningite tuberculeuse par la streptomycine (*J. de Méd. Bordeaux*, 125 : 114, mars 1948).

63. Damade (R.), Blanchot, Leman et Lintillac. — L'expérience du centre de Bordeaux dans le traitement par la streptomycine des lésions tuberculeuses du tractus respiratoire (pharynx, larynx, bronches). (*Journ, de Méd. de Bordeaux,* 3 : 99-103, mars 1948).

64. Damade (R.), Dulong de Rosnay (Ch.) et Chavannaz. — Streptomycine et chirurgie. Nécessité du contrôle biologique (*Mem. de l'Acad. de Chir.,* 74, n°s 23 et 24, 7 juillet 1948).

65. Damade (R.), Dulong de Rosnay (Ch.) et Labadie. — Action du phénergan sur les vertiges et les vomissements dûs à la streptomycine (*Presse Médicale,* 69 : 834, 1948).

66. Damade (R.) et Dulong de Rosnay (Ch.). — Un an de traitement de la méningite tuberculeuse de l'adulte par la streptomycine (*Presse Médicale,* 69: 894, 1948).

67. Damade (R.), Dulong de Rosnay (Ch.) et Dubreuilh. — Accidents neuro-toxiques dûs à la streptomycine (*Paris Médical,* 9 : 84-87, 5 mars 1949).

68. Damade (R.), Piéchaud (P.), Fréour (P.) et Roux. — Efficacité de la streptomycinothérapie sur la tuberculose intestinale (*Presse Médicale,* 9 : 130, 5 février 1949).

69. Damade (R.), Dulong de Rosnay (Ch.) et Jeantet (V.R.). — La perméabilité méningée à la fuschine dans la méningite tuberculeuse (note préliminaire) (*Presse Médicale,* 32 : 437, 14 mai 1949).

70. Damade (R.), Piéchaud (P.), Traissac (F.J.), Fréour (P.) et Roux. — Tuberculose intestinale et streptomycine. Incidence nouvelle de la tuberculose intestinale au cours de la phtisie (*Presse Médicale,* 37 : 514, 1949).

71. Damade (R.) et Dulong de Rosnay (Ch.). — Le diagnostic précoce des méningites au cours des miliaires (*Presse Médicale,* 3 septembre 1949).

72. Damade (R.), Dulong de Rosnay (Ch.) et Jeantet (V.R.). — La perméabilité méningée à la streptomycine. Intérêt diagnostique et thérapeutique (*Journal Médecine de Bordeaux,* décembre 1949 et *Presse Médicale,* 32 : 437, 1949.

73. Damade (R.) et Dulong de Rosnay (Ch.). — Considérations sur le traitement de la méningite tuberculeuse (*Journal de Médecine de Bordeaux,* 2 : 87, fév. 1950).

74. — Le rôle du laboratoire dans la surveillance du traitement par la streptomycine (*Journal de Médecine de Bordeaux,* 2 : 90, 1950).

75. Debré (R.), Thiéffry (S.) et Brissaud (H.E.). — Méningite tuberculeuse et tuberculose miliaire aiguë chez l'enfant traitées par la strept. Premiers résultats (*Presse Méd.,* 56 : 121-122, 21 février 1948).

76. — La streptomycine appliquée au traitement de la méningite tuberculeuse et de la tuberculose miliaire chez l'enfant (*Masson,* 1948).

77. Decourt (J.), Guillemin (J.), Canivet (J.), Sibertin-Blanc (J.), Jupeau (M.), Villiaumey (J.) et Chevance (L.G.). — Sur 72 cas de méningite tuberculeuse traités par la strept. (*Presse Méd.,* 56 : 128-131, 21 février 1948).

78. Demerec (M.). — Production of staphylococcus strains resistant to various concentrations of penicillin (*Proc. Nat. Acad. Sc.,* 131 : 16-24, janvier 1945).

79. Denkelwater (R.), Cook (M.A.) et Tishler (M.). — The effect of cystein on strept. and streptothricin (*Sciences,* 102 : 1-12, 1945).

80. Deyke (P.). — L'administration intermittente de la streptomycine (*J.A.M.A.,* 93 : 3945, 18 déc. 1949).

81. Donovick (R.), Hamre (D.), Kanavach (F.) et Rake (G.). — A Broth Dilution Method for assaying streptothricin and strept. (*J. Bac.,* 50 : 623-628, 1945).

82. Donovick (R.) et Rake (G.). — Influence of certain substance on activity of strept. I. Modification in test medium (*Proc. Soc. exper. biol. and Med.*, 61 : 224-227, mai 1946).

83. Dubois (R.) et Linz (R.). — Note préliminaire sur les observations recueillies au cours d'un essai de traitement de la méningite tuberculeuse par la strept. (*Bull. Acad. Roy. de Méd. de Belgique*, 12 : 13-31, 1947).

84. Dubois (R.), Linz (R.), Leschanowski (H.), Schlesser (R.) et Wattiez (R.). — Observations recueillies au cours d'un essai de traitement de la méningite tuberculeuse par la strept. (*Acta clin. Belgica*, 3 : 1-74, 1948).

85. Dubos (R.) et Davis (B.). — Factors affecting the growth of tubercle bacilli in liquid media (*Journal Exp. Medecine*, 83-409, 1946).

86. Dubos (R.), Davis (B.), Middlebrook (G.) et Pierce C.). — The effect of water soluble lipids on the growth and biological properties of tubercle bacilli (*American Review of Tuberculosis*, 54 : 204, 1946).

87. Dubos (R.) et Middlebrook (G.). — Media for tubercle bacilli (*American review of Tuberculosis*, 56 : 334, 1947).

88. Dulong de Rosnay (C.) et Masquelier (J.). — Le contrôle biologique de la strept. Utilisation des substances retard. (*Comptes rendus Soc. Biol.*, 142-1546, 1948).

89. Duroux, Verges, Marty et Ablard. — Les premiers résultats de nos traitements par la streptomycine dans la tuberculose (*Société de Médecine militaire franç.*, 8 juillet 1948).

90. Elias (W.F.) et Durso (J.). — Blood, urine and fecal infections of Eberthella typhosa (*Sciences*, 101 : 589-591), 8 juin 1945).

91. Elson (I.A.), Morgan (W.T.). — *Journal of Biochimie*, 27, 1925, 1933.

92. Emerson (G.R.) et Smith (D.C.). — Induction of nutritional deficiency by oral administration of Strept. (*J. Pharmacol. and Exper. Therap.*, 85 : 336-342, déc. 1945).

93. Emmart (E.W.). — Tuberculostatic action of streptothricin and strept. with special reference to action of strept. on chorio allantoid membrane of chick embryo. (*Pub. Health Rep.*, 60: 1415-1421, nov. 1945).

94. Fabber (J.E.), Miller (D.K.). — (*Am. Rev. Tub.*, 48 : 406, 1943).

95. Farrington (R.F.), Hull Smith (H.), Bunn (P.A.), Dermot (W.). — Strept. toxicity. Reaction to highly purified drug on long continued administration to human subjects (*J.A.M.A.*, 134 : 679-683, 1947).

96. Feldman (W.H.) et Hinshaw (H.C.). — Effects of strept. on experimental tuberculosis in guinea pigs : a preliminary report. (*Proc. Staff meet. Mayo clin.*, 19 : 593-599, 27 déc. 1944).

97. — Chemotherapeutic testing in experimental tuberculosis : suggested outlive in laboratories for testing antituberculosis substances in experimentally infected animals. (*Am. Rev. Tuberc.*, 51 : 582-595, juin 1945).

98. — Strept. in experimental tuberculosis « in vivo ». Sensitivity to strept. of recently isolated strains of human tubercle. (*Am. Rev. Tuberc.*, 55 : 428-434, mai 1947).

99. — Strept a valuable anti-tuberculosis agent (*Brit. M. J.*, 87 : 94, 17 janvier 1948).

100. Feldman (W.H.), Hinshaw (H.C.) et Karlson (A.G.). — — Frequencity of administration of strept. Its influence on results of treatment of tuberculosis in guinea-pigs (*Am. Rev. Tuberc.*, 55 : 435-443, 1947).

101. Feldman (W.H.), Hinshaw (H.C.) et Mann (F.C.). — Strept. in experimental tuberculosis (*Am. Rev. Tuberc.*, 52 : 269-303, oct. 1945.

102. — (*Amer. Rev. Tuberc.*, 45: 303, 1942).

103. Fevrier (P.) et Huet (M.). — Méthode de Pryce modifiée de culture rapide des B.K. sur lame pour recherche de la résistance à la streptomycine (*La Semaine des Hôpitaux*, 39 : 1691, 26 mai 1949.

104. Finland (M.), Murray (R.), Harris (H.W.), Kilham (L.), Meads (M.). — Development of streptomycin resistance during the treatment (*J.A.M.A.*, 132 : 16-21, 7 septembre 1946).

105. Fisher (M.W.). — Strept. resistant tubercle bacilli. Their development during streptomycin therapy of pulmonary tuberculosis (*Am. Rev. Tuberc.*, 57 : 53-62, 1948).

106. Fisher (R.A.). — Statistical methods for researsh (*Am. Rev. Tuberc.*, 128, London, 1936).

107. Fitzgerald (R.J.), Bernheim (F.). — Metabolic changes in certain Mycobacteria associated with development of resistance to strept (*J. Bact.*, 54 : 68, 1947).

108. Forster (J.W.) et Woodruff (H.B.). — Chemical abstracts, 37.4763, 1943.

109. — Quantitative estimation of streptothricin. (*J. Bacteriology*, 45 : 408-409, avril 1943).

110. Fouquet (J.). — Streptomycine et tuberculose (*Presse Médicale*, 56 : 131-132, 21 février 1948).

111. — Adénophlegmon tuberculeux mortel au décours d'une granulie traitée par la streptomycine (*Bull. et Mém. de la Soc. Méd. des Hôp. de Paris*, 65 : 59-63, 1949).

112. Fuller. — (*J. Am. J. Clin. Path.*, 17 : 891, 1947).

113. Franco (F. de). — Valeur de l'examen du L.C.R. pendant le traitement de la méningite tuberculeuse par la streptomycine (*Policlinico* (Sez. Prat), 55 : 7-9, 5 janv. 1948).

114. Galland et Froyez (Berck). — Streptomycine et tuberculose. (*III° journée de pneumophtisiologie infantile*, Lille, le 25 septembre 1948).

115. Garnet (R.L.), Tillett (W.S.). — (*J. Exp. Med.*, 60 : 239, 1934).

116. Garrod (L.P.). — The laboratory control of penicillin treatment (*Brit. Med. Journal*, 1 : 528-530, 15 avril 1944).

117. — The bactericidal action of strept. (*Brit. M.J.*, n° 4547: 382-386, 28 février 1948.

118. Garrod (L.P.) et Sureau (B.). — Rôle du laboratoire au cours du traitement par pénicilline (*La Semaine des Hôpitaux*, 2 : 57, 14 janvier 1946).

119. Geiger (W.B.), Green (S.R.) et Waksman (S.A.) — Inactivation of strept. and its pratical applications (*Proc. Soc. Exper. and Med.*, 61 : 187-192, fév. 1946).

120. Gernez-Rieux (Ch.), Breton, Delwaulle, Sevin. — Etudes comparatives des procédés de recherche de la streptomycino-résistance du bacille de Koch in vitro, in vivo (*Société Française de Tuberculose*, 8 janv. 1949).

121. Gernez-Rieux (Ch.), Sevin (A.) et Spy (Cl.). — Contribution à l'étude de la culture du bacille tuberculeux sur le milieu synthétique de Dubos (*Annales de l'Institut Pasteur de Lille*, 1 : 175-199, 1948).

122. — Utilisation du milieu de Dubos pour la culture de mycobactérium tuberculosis à partir de produits paucibacillaires (*Société de Biologie Lille*, réunion du 15 décembre 1947).

123. — Le milieu de Dubos. Son application à l'étude de la biologie du bacille tuberculeux et au diagnostic de la tuberculose humaine, 12 : 41, 1948).

124. Gernez-Rieux (Ch.), Breton (A.), Sevin (A.) et Chenet (C.). — Recherche de la streptomycino-résistance du B.K chez 120 sujets atteints de tuberculose pulm. et traités par la strept. (*Revue de la Tuberculose*, 13 : 503, 1949).

125. Graessle (O.E.) et Frost (B.M.). — Induced « in vitro » resistance of staphylococci to strept. and penicillin (*Proc. Soc. Exper. Biol. and Med,* 63 : 171-177, oct. 1946.

126. Graham (B.E.), Van der Brook (M.J.) et Knizenga (M.H.). — Preliminary studies on absorption and excretion of strept. in dogs. Science, 103 : 364, mars 1946.

127. Grumbach (F.), Mousset (H.) et Boyer (F.). — Sensibilité et accoutumance des germes à la streptomycine (*Ann. Inst. Pasteur,* t. 73 : p. 929-933, sept. 1947).

128. Gutmann (M.), Trockman (R.) et Ivy (A.C.). — The concentration of strept. in dog bile. (*I. Lab and Clin. Med.,* 31 : 1313-1316, déc. 1946).

129. Hamre (D.), Rake (G.) et Donovick (R.). — Bactericidal action of strept. (*Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.,* 62: 25-31, mai 1946.

130. Hauduroy (P.) et Rosset (W.). — Culture des différentes variétés de mycobactéries en milieu de Dubos. (*Comptes rendus de la Société de Biologie,* 141 : 169, 1947).

131. Heatly. — (*Biochem. J.,* 38: 61, 1944).

132. Heatler (A.J.) et Scott (E.G.). — Tularemia : a case treated with strept. Delaware (*Med. J.,* 18: 148, 1946).

133. Hegarty (C.P.), Thiele (Elisabeth) et Werwey (W.F.). — The « in vitro » « in vivo » activity of strept. against H. pertussis (*J. Bact.,* 50 : 651-654, déc. 1945).

134. Heilman (F.R.). — Strept. in the treatment of experimental infections with micro-organisms of the Friedlander group (Klebsiella). (*Proc. Staff. Meet. Mayo Clini.,* 20 : 33-39, 7 février 1945).

135. — Strept. in the treatment of experimental tularemia (*Proc. Staff. Meet. Mayo Clin.,* 19 : 553, 29 nov. 1944).

136. Heilman (F.R.Y.). — Strept. in the treatment of experimental relapsing fever and leptospirosis icterohemorrhagica (Weil's Disease). (*Proc. Staff Meet. Mayo Clin.*, 20 : 169-176, 30 mai 1945.

137. Heilman (F.R.) et Cray. — A method for estimating the concentration of strept. in body fluids (*Proc. Staff. Meet. Mayo Clin.*, 20 : 145, 1945).

138. Heilman (D.H.), Heilman (F.R.), Hinshaw (H.C.), Nichols (D.R.) et Herrel (W.E.). — Strept. : Absorption, diffusion, excretion and toxicity (*Proc. Staff. Meet. Mayo Clin.*, 22 : 408, 1945).

139. — Strept. : Absorption, diffusion, excretion and toxicity (*Am. J. M. Sc.*, 210 : 576-584, nov. 1945).

140. Helmholtz (H.F.). — The effect of strept. on Bacteria commonly found in urinary infections (*Proc. Staff. Meet. Mayo Clin.*, 20 : 357-362, 3 oct. 1945).

141. Henry (R.J.), Berckman (S.) et Housewright (R.D.). — — Studies on strept. II. Inactivation of strept. upon standing in certain culture media and human serum (*J. Pharmacology and experim. therapy*, 90 : 42-45, mai 1947).

142. Henry (J.), Henry (R.J.), Housewright (R.D.) et Berkman (S.). — On the mode of action of strept. (*J. Bact.*, 54 : 9, juillet 1947).

143. Hewitt (W.L.) et Pittman (M.). — Antibacterial action of penicillin and strept. on H. influenzæ (*Pub. Health Rep.*, 61 : 768-778, mai 1946).

144. Hinshaw (H.C.), Feldman (W.H.) et Pfuetze (K.H.). — (*Am. Rev. Tub.*, 54 : 191, 1946).

145 — (*Journal of American Medical Association*, 132: 778, 1946).

146. Howlett (K.S.), O'Connor (J.B.), Sadusk (J.F.), Swift (W.E.) et Beardsley (F.A.). — Sensitivity of tubercle bacilli to streptomycin. The influence of various

factors upon the emergence of resistant strains (*Am. Rev. Tuberc.*, 59 : 402-414, 1949).

147. Hobby (G.L.), Lenert (T.F.) et Hyman (B.). — Factors influencing the action of strept. « in vitro » (*J. Bact.*, 51 : 606, mai 1946).

148. Howard (W.L.), Maresh (T.), Mueller (E.E.), Yannitelli (S.A.) et Woodruff (C.E.). — The rôle of pulmonary cavitation in the development of bacterial resistance to strept. (*Am. Rev. Tub.*, 59 : 391, 1949).

149. Jones (D.). — The effect of antibiotic substances upon bacteriophage (*J. Bact.*, 50 : 341-347, sept. 1945).

150. Jones (D.), Metzger (H.J.), Schatz (A.) et Waksman (S.A.). — Control of gram. negative bacteria in experimental by strept. (*Science*, 100 : 103-105, 4 août 1944).

151. Karlson et Needman. — Détermination de la sensibilité des bacilles tuberculeux à la streptomycine par l'emploi d'un milieu à l'agar et au jaune d'œuf. (*Proceeding of the staff meetings of the Mayo clinic.* pp. 401-407, 1948).

152. Keefer (C.S.). — Strept. : The indications, contra-indications. Mode of administration. Dosage and Toxic Effects. (*Med. J. Australia*, 2 : 800, 28 juin 1947).

153. Keefer (C.S.), Blake (F.G.), Locwood (J.S.), Long (P. H.), Marshall (E.K.) et Wood (W.B.J.). — Streptomycin in treatment of infections. A report on thousand cases (*J. Am. Ass.*, 132 : 4-11, 7 sept. 1946, et 70-77, 14 sept. 1946).

154. Kelly (E.H.) et Henley (F. Jr.). — Strept. in experimental brucellosis. (*Congr. Soc. Am. Bacteriologists* (13-16 mai 1947), *J. Bact.*, 54 : 80-81, juillet 1947).

155. Kempe (J.E.), Shaw et Silver. — Clinical application of chick embryo cultures. I. Primary diagnosis of meningitis and study of spinal fluid in meningococ-

cemia without meningitis. II. « In vitro » strept. sensitivity test. (*Am. J. Dis. Child.*, 72: 285-288, sep. 1946).

156. Kerschener (B.). — (*Newyork State, J. Med.*, 46 : 525, 1946).

157. Kirby (W.M.M.) et Rantz (L.A.). — Methods of measuring penicillin concentrations in body fluids (*J. Of. Bact.*, 48 : 603, 1944).

158. Kirmse (T.W.), de Vito (E.). — (*Jour. Am. Med. Ass.*, 136 : 593, 1948).

159. Klein (M.) et Kimmelman (L.J.). — Development of strept. resistance of the Shigellæ (*J. Bact.*, 51 : 581, mai 1946).

160. — Role of spontaneous variants in acquisition of streptomycin resistance by « Shigillæ » (*J. Bact.*, t. 52 : 471-479, 1946).

161. — Development of strept. resistance of the « Shigellæ », (*J. Bact.*, 51 : 581, mai 1946).

162. Klimek (J.W.), Cavalito (C.S.) et Bailey (J.H.). — Induced resistance of Staph. aureus to antibiotics (*J. Bact.*, 51 : 580, mai 1946).

163. Klimek (J.W.), Cavallito (C.J.) et Bailey (J.G.). — Induced resistance of Staph. aureus to various antibiotics (*J. Bact.*, 55 : 139-145, fév. 1948).

164. Kolmer (J.A.). — Examennes de laboratoria en relation à la therapeutica con penicilla y estrept (*Rev. Med. Hosp. Gen.*, 11 : 45, 1948).

165. Kolmer (J.A.), Bondi (A. Jr.), Warner (H.F.) et Dietz (C.). — Administration of strept. in peanut oil beeswax ans solvecillin (*Science*, 104 : 315-317, oct. 1946).

166 — Influence of sodium benzoate by ingestion upon urinary excretion of strept. (*Proc. Soc. Expert Biol. and Med.*, 63 : 455-456, nov. 1946).

167. Kolmer (J.A.) et Rule (A.M.). — (*Soc. Exp. Biol. and Med.*, 63 : 455-456, nov. 1946).

168. Kolmer (J.A.), Rule (A.M.), Paul. — (*Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 62 : 109, 1946).

169. Kokko (U.P.). — Détermination par la méthode des disques de papier buvard imprégné de la sensibilité aux sulfamides (*Ann. Méd. Biol.* (Fenniæ), 25 : 79-99, 1947).

Sensibilité à la pénicilline, (*Ann. Méd. Biol.*, 2 : 103-111).

170. Kornegay (G.B.), Forgacs (U.) et Henley (T.F.). — Studies on strept. Blood levels and urinary excretion in man animals (*J. Lab. and Clin. Med.*, 31 : 523-534, n° 5, mai 1946).

171. Laham (J.). — La streptomycine (*Rev. Méd. Franç.*, 28: 57-59, avril 1946).

172. Lasseur (P.), Dupaix-Lasseur (A.), Pépin (J.), Lévêque (M.T.), Girard (T.) et Aubert (J.). — Contribution à l'étude de la pénicilline (*Travaux Microbiol. Fac. Pharmac.*, Nancy, XIV, 1945).

173. Lavergne (G.H.). — Le milieu de Dubos, son originalité (*Paris Médical*, 1949).

174. Lechelle (P.). — Considérations sur le diagnostic biologique de la méningite tuberculeuse. Eventualité de liquides céphalo-rachidiens normaux au cours de cette affection (*La Semaine des Hôpitaux*, 34 : 1095-1096, 2 mai 1948).

175. Lee (H.F.) et Stavisky (A.B.). — Intravenous infection of the chick embrio with tubercle bacilli. Inhibitory effects of strept. (*Am. Rev. Tuberc.*, 55 : 262-279, mars 1947).

176. Léopold (I.H.) et Nichols (A.). — Intraocular penetration of strept. following systemic an local administration (*Arch. opht.*, 35 : 33-38, janv. 1946).

177. Letic, Popovic (D.). — Tuberculose miliaire généralisée compliquée de méningite traitée par la streptomycine et l'allergine tuberculeux (*Archives Serbes de Médecine*, 46 : 235-238, 3 mars 1948.

178. Levaditi (C.). — La streptomycine et ses applications thérapeutiques (*Presses documentaires,* Paris, 1948).

179. Levaditi (C.) et Henry (J.). — Mécanisme de l'activité antibiotique « in vitro » de la strept. sur E. Coli et B. Subtilis. (*Bull. Acad. Nat. de Méd.,* 131 : 169-173, 11 mars 1947).

180 — Mode d'action de la strept. sur le B. anthracis « in vitro » (*Compt. rend. de la Soc. Biol.,* 141 : 583, 14 juin 1947).

181. Levaditi (C.) et Vaisman (A.). — Action antibiotique de la strept. dans la tuberculose expérimentale de la souris (*Bull. Acad. Nat. de Méd.,* 131 : 173-175, mars 1947).

182. — Activité curative de la strept. dans la tuberculose expérimentale de la souris (*Bull Acad. Nat de Méd.,* 131 : 457-461, juillet 1947).

183. — Etude expérimentale de l'activité thérapeutique de la strept. dans la tuberculose (*Presse Médicale,* 55, N° 54 : 611-613, 20 septembre 1947).

184. — Effets curatifs de la strept. chez les souris contaminées par le mycob. tuberculosis. (*Bull. Acad. Nat. de Méd.,* 131 : 671-674, 2 déc. 1947).

185. — Devenir des souris tuberculisées traitées par la strept. (*Bull. Acad. Nat. de Méd.,* 132 : 65-68, 27 janv. 1948).

186. — Activité thérapeutique de la strept. chez les souris contaminées avec le mycob. tuberculosis (*Compt. rend. Soc. de Biol.,* 142 : 43-44, janvier 1948).

187. — Méningite tuberculeuse expérimentale de la souris. Effets de la strept. (*Compte rendu Soc. de Biol.,* 142 : 306-307, 13 mars 1948).

188. — Effets curatifs de la strept. chez les souris contaminées par le mycob. tuberculosis (*France Méd.,* 11 : 13-16, avril 1948).

189. Levaditi (C.), Vaisman (A.) et Lévy (R.). — Traitement des souris tuberculisées par de fortes doses de strept. (*Compt. rend. Acad. des Sc.*, 226 : 1759-1760, 24 mai 1948).

190. Levaditi (C.) et Veillet (J.). — Rôle des défenses phagocytaires dans le mécanisme d'action de la strept. « in vivo » (*Rev. d'immu. et ther. microb.*, 2, N° 45 : 206-221, 1947).

191. Lincoln (E.M.). — (*Amer Revue Tub.*, 45 : 303, 1947).

192. — (*Amer Revue Tub.*, 56 : 95, 1947).

193. Lincoln (E.M.) et Kirmse (T.W.). — Streptomycin and promizole in miliary tuberculosis and tuberculous meningitis in children (*The Lancet*, N° 19 :767, 1949).

194. Lincoln (E.M.), Kirmse (T.W.) et de Vito (E.). — Tuberculous meningitis in children. A preliminary report of its treatment with strept. and Promizole (*J.A. M.A.*, 136 : 593-997, 28 février 1948).

195. Lincoln (E.M.), Stone (S.) et Hoffman (D.R.). — Traitement de la granulie par le promizol (*Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 82 : 56-75, janv. 1948).

196. Linz (R.) et Mutsaars. — Dosage de la strept. dans les liquides biologiques (*Comptes rendus de la Soc. de Biologie Belge*, N° 141, p. 955, séance du 28 juin 1947).

197. Live (I.), Sperling (F.G.) et Stubbs (E.L.). — Effect of strept. on experimental brucellosis in guinea-pigs (*Am. J. M. Sc.*, 211 : 267-272, mars 1946).

198. Loo (Y. H.), Skell (P.S.), Thornherry (M.H.), Ehrlich (J.), Guirre (J.M.), Savage (G.M.) et Sylvester (J.C.). — Essay of strept. by the paper disq plate method (*J. Bacteriology*, N° 50 : 700-709, 1945).

199. Luria (S.E.). — Un procédé de mesure de sensibilité et de la résistance des staphylocoques à la pénicilline (*Proc. Soc. Exp. Biol. Méd.*, 61 : 46-51, 1946).

200. Madigan (D.G.), Swift (P.N.) et Brownlee (G.). — Clinical and pharmacological aspects of toxity of strept. (*Lancet,* 252 : 9-11, 4 janvier 1947).

201. Madigan (D.G.), Swift (P.N.), Brownlee (G.) et Payling-Wright (G.). — Treatment of tuberculosis with strept. and sulphetrone (*Lancet,* 253 : 897-904, 20 décembre 1947).

202. Maral (R.). — Contribution à l'étude du dosage de la pénicilline dans le sang et des substances retard en pénicillinothérapie (*Thèse,* Lyon, Bosq éd., 67, 1947).

203. Maral (M.R.) et Blandin (Mlle). — La streptomycine (*Journal de Médecine de Lyon,* 6 décembre 1948).

204. — (*Thèse,* Lyon, Parmacie, 1949).

205. Marshall (E.R.). — The absorption, distribution and excretion of streptomycin (*The Journal of pharmacology and experimental therapie* (Baltimore), 92 : 43-48, 1948).

206. Marshall (E.R.), Blanchard (K.C.), Buhle (E.L.). — Colorimetric méthods for determination of strept. (*J. Pharmacol. Exptl. Therap.,* 90 : 367, 1947).

207. Martin (R.), Niti (F.), Sureau (B.) et Berrod (J.). — La pénicilline et ses applications cliniques. 1 vol. *Ed. Méd.,* Flamarion, 224 pages, Paris, 1945).

208. Martin (R.) et Sureau (B.). — Traitement moderne des méningites purulentes aiguës. 1 volume *Ed. Méd.,* Flamarion, 256 pages, Paris, 1948).

209. Martin (R.), Sureau (B.) et Chabbert (Y.). — Rôle du laboratoire au cours du traitement par la strept. Etude des échecs. *Presse Médicale,* 11 : 122-124, 1948).

210. Martin (R.), Sureau (B.), Chabbert (Y.) et Junod (Ch.). — La pénicilline retard. Préparation, posologie, indications (*La Semaine des Hôpitaux,* 1948).

211. Martin (S.L.). — Strept. : traitement des infections tuberculose exceptée) (*Thèse,* Paris, 1947, n° 378).

212. Masquelier (J.). — Dosage colorimétrique de la strept. dans l'urine (*Bull. Travaux Soc. Pharm. Bordeaux,* 87 : 53, 1949).

213. Mason (E.E.), Kridelbangh (W.W.), Crouch (W.H.). — Streptomycin in the treatment of tuberculous enteritis. A. J. of Med. (*Sciences,* 217 : 28, 1949).

214. Massart (L.), Peeters (G.), Delay (J.), Vercauteren (R.) et Van Houcke (A.). — The mechanism of biocheminal activity of acridines (*Experientia,* 3 : 288-289, 1947).

Acridines and strept. (*Experientia,* 3 : 289-290, 1947).

215. Mattei (Ch.). — Notions pratiques sur la strept. chez l'adulte (*La Semaine des Hôpitaux,* 39 : 1693, 26 mai 1949).

216. — Notes cliniques et thérapeutiques sur cent malades traités par la strept. (*Presse Médicale,* 11 : 134-135, Février 1948).

217. Mattei (Ch.), Gastaut (H.) et Balozet (P.). — Aspects de pachyméningite tuberculeuse de la base et lésions cérébrales après traitement prolongé par streptomycyne avec injections macrospiques et microscopiques (*La Semaine des Hôpitaux,* 39 : 1693, 26 mai 1949).

218. Mattei (Ch.), Sarradon (P.), Balozet (P.), Mattei (C.), Tristani (M.). — Action de la streptomycine dans les tuberculoses « officiellement » incurables (*La Semaine des Hôpitaux,* 39 : 1693, 26 mai 1949).

219. Mattei (Ch.), Sarradon (P.), Tristani (M.), Balozet (P.), Mattei (C.). — Résultats obtenus par la strept. et pneumothorax dans les tuberculoses pulmonaires évolutives récentes précocement traitées (*La Semaine des Hôpitaux,* 39 : 1.693, 26 mai 1949).

220. Mattei (Ch.), Tristani (M.), Balozet (P.), Barbe, Mattei (C.). — Sensibilisation et désensibilisation à la strept. (*La Semaine des Hôpitaux,* 39 : 1.693, 26 mai 1949).

221. Mattei (Ch.), Tristani (M.), Choux (J.) et Mattei (C.). — L'évolution rapide favorable des pleurésies graves traitées par la strept. (présentation des radiographies) (*La Semaine des Hôpitaux*, 39 : 1.693, 26 mai 1949).

222. May (J.R.), Voureka (A.E.) et Fleming. — Some problems in the titration of streptomycin, (*Brit. Med. Journ.*, 505 : 627-630, mai 1947).

223. Medical News. — Distribution of strept. (*S.A.M.A.*, 132 : 531, 1946).

224. Metzger (H.J.), Waksman (S.A.) et Pugh (L.H.). — « In vivo » activity of streptothricin against Brucella abortus. (*Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 51 : 251-252, oct. dec. 1942).

225. Meyer (A.) et Galland. — Techniques de recherche de la streptomycino-résistance des bacilles tuberculeux (*Société d'Etudes Scientifiques sur la tuberculose*, 11 décembre 1948).

226. Middlebrook (G.) et Yegian (D.). — Certain effects of strept. on mycobacteria « in vitro » (*Am. Rev. Tuberc.*, 54 : 553-558, 1946).

227. Milgram (L.), Levitt (I.), Unna (M.S.). — (*Amer. Rev. Tuberc.*, 55 : 144, 1947).

228. Miller (C.P.) et Bohnhoff (M.). — Strept. resistance to antibiotics (*J.A.M.A.*, 135 : 749-751, 1947).

229. Miller (C.P.) et Bohnhoff (M.). — Strept. resistance of gonococci and meningococci (*J.A.M.A.*, 130 : 485-688, 1946).

230. Miller (C.P.) et Bohnhoff (M.). — The development of Strept. resistant variants of Meningococcus (*Science*, 105 : 620-621, 1947).

231. Mollaret (P.). — Sentiment actuel sur la streptomycinothérapie (*Presse Médicale*, 11, 124-127, 21 fév. 1948).

232. Moliton (H.). — Sérum concentration of streptomycin following the various methods of administration and serum concentration of streptomycin in mice. Pharmacology of streptomycin. (*Bulletin of the New-York Academy of medecine, vol.* 23,4 : 203, second series, april 1947).

233. Morin (M.), Nehlil (J.), Pichon (R.). — La streptomycine (*Masson et C°*, 1949).

234. Moureau (M.) et Chabbert (Y.). — Etude de la précision du titrage biologique de la pénicilline par la méthode B. Sureau, F. Despin et O. Schun (*Soc. Biol.*, 141 : 898-900, sept. 1947).

235. Mouriquaud (G.). — Le centre de streptomycine de Lyon (*Presse Médicale*, 11 : 135-137, 21 février 1948).

236. Murray (R.), Paine (T.) et Finland (M.). — Strep. I. bacteriologic and pharmacologic aspects. New England, *J. Med.* 236 : 701-712, 1947).

237. Ordal et Meyer. — (*J. Bacteriology*, 1946, 52-67).

238. Oswald (E.J.) et Nielsen (J.K.). — Studies on stability of strept. in solutions (*Sciences*, 105 : 184, 1945).

239. Paoletti (A.). — (*Acta Med. Ital.* 1948-3,146).

240. Paraf (J.), Abaza (A.). — Les bacilles tuberculeux streptomycino dépendants (*Société Médicale des Hôpitaux de Paris*, 13 et 14 : 624, 1949).

241. Paul (A.) et Bunn (M.D.). — One hundred cases of miliary and meningeal tuberculosis treated with streptomycin. (*The American journal of the medical sciences*, 287, 1948).

242. Peck (R.L.), Hoffhine (C.E.), Peel (E.W.), Graber (R.P.), Molly (F.W.), Monzigo (R.) et Folkers. — Streptomyces antibiotics. Hydrolytic cleavage of strep. to streptidine (*J. A. Chem. Soc.*, 68 : 29, 1946).

243. Prevot (A.R.). — Méthode de titrage rapide de la pénicilline par inhibition du pouvoir réducteur du W.

perfringens sur le vert Janus (*Ann. Inst. Pasteur*, 72, N° 5 et 6 : 471, 1946).

244. Prevot (A.R.) et Ferly (A.). — Application de la méthode du vert Janus à la détermination de la sensibilité des anaerobies à la pénicilline (*Bull. Acad. Med.*, 130 : 123,1946).

245. Price (C.W.), Nielsen (J.K.) et Welch (H.). — Estimation of strept. in body fluids. (*Sciences*, 105 : 56, 1946).

246. Price (C.W.), Randal (W.A.), Chandler (V.L.) et Reedy (R.J.). — Observation on the « in vitro » development of bacterial resistance to strept. (*J. Bact.*, 53 : 481-488, avril 1947).

247. Pulaski (E.J.) et Amspacher (W.H.). — Strept. therapy in urinary tract infections (*Surg. Gyn. Obst.*, 85 : 107-112, juil. 1947).

248. Pulaski (E.J.) et Sprinz. — Strept. in surgical infections. I. laboratory studies (*Ann. Surg.*, 125 : 194-202, fev. 1947).

249. Rammelkamp (Ch.). — A method for determining the concentration of penicillin in body fluids and exsudates (*Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 51 : 95, 1942).

250. Rammelkamp (Ch.) et Keefer (C.S.). — The absorption excrétion and distribution of penicillin (*J. Clin. investigation*, 22 : 425, 1943).

251. Rammelkamp (C.M.), Maxar (T.). — Resistance of staphylococcus to the action of penicillin. (*Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 51 : 386, 1942).

252. Reilly (H.C.), Schatz (A.) et Waksman (S.A.). — Antifungal properties of antibiotic substances (*J. Bact.*, 49 : 585-594, juin 1945).

253. Reimann (H.A.), Elias (W.F.) et Price (A.H.). — Strept. for typhoïd : pharmacologic study (*J.A.M.A.*, 128 : 175-180, 19 mai 1945).

254. Reimann (H.A.), Price (A.H.) et Elias (W.F.). — Strept. in the treatment of typhoïd fever (*Bulletin New-York Acad. Med.*, 21 : 433, avril 1945).

255. Reimann (H.A.), Price (A.H.) et Elias (W.F.). — Strept. for certain systemic infections and its effects on the urinary and fecal flora (*Arch. Int. Med.*, 76 : 269-277, nov.-dec. 1945).

256. Robinson (H.J.), Smith (D.G.) et Graessle (O.E.). — Chemotherapic properties (*Ann. New-York Acad. Sc.*, 48 : 119-142, sept. 1946).

257. Rockwell (G.E.). — The ineffectiveness of strept. on tubercular infections (*J. Bact.*, 51 : 607, 1946).

258. Romansky (H.J.) et Rittman (G.E.). — Un moyen pour prolonger l'action de la pénicilline (*Science, New-York*, 100 : 196-198, 1944).

259. Sanchez (G.) et Lamensans (A.). — Dosage simple de la pénicilline et de la streptomycine dans les solutions, les émulsions, les pommades (*Ann. Inst. Pasteur*, 74 : 142-146, fév. 1948).

260. Saenz et Canetti (G.). — La streptomycino-résistance du bacille de Kock en fonction de la dose de streptomycine administrée. Une étude de 150 cas de tuberculose pulmonaire (*Revue de la Tuberculose*, 13 : 503-504, 1949).

261. Schatz (A.), Bugie (E.) et Waksman (S.A.). — Strept. a substance exhibiting antibiotic activity against gram positive and gram negative bacteria (*Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 55 : 66, 1944).

262. Schatz (A.) et Waksman (S.A.). — (*Annales Inst. Pasteur*, 69 : 262, 1943).

263. Schatz (A.) et Waksman (S.A.). — Effect. of streptomycin and other antibiotic substances on « mycobacterium tuberculosis » and related organism (*Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 57 : 244-248, 1944).

264. Schenck (J.R.), Spielman (M.A.). — Formation of maltol by the degradation of streptomycin (*J. A. Chem. Soc.*, 67 : 22-67 1945).

265. Scudi (J.V.), Boxer (C.I.) et Jelinek. — A color reaction giveen by streptomycin (*Sciences*, 104 : 486, 1946).

266. Sedaillan (P.), Moinecourt (J.), Vialtel (J.), Maral (R.) et Hermuziere (J. de l'). — L'activité du Centre de strept. de la clinique des maladies infectieuses. Considérations préliminaires sur la strept. (*Lyon Méd.*, 179 : 225-230, 4 avril 1948).

267. Sedaillan (P.), Vialtel (M.), Moinecourt (J.), Maral (R.) et Hermuziere (J. de l'). — Le Centre de strept. de Lyon (*Presse Médicale*, 56, N° 11 : 137-138, 21 fév. 1948).

268. Sherwood (M.P.), Falco (E.A.) et de Beer (E.J.). — A rapid quantitative method for the determination of penicilin (*Science*, 247-248, 24 mars 1944).

269. Smith (D.G.). — Quantitative measurement of growth of mycobacterium tuberculosis. Effect of strept. (*Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 64 : 36-40, janv. 1947).

270. Smith (D.G.) et Robinson (H.J.). — The influence of strept. and streptothricin on intestinal flora of mice (*J. Bact.* 50 : 613-621, dec. 1945).

271. Smith (M.I.) et Mac Closky (W.T.). — Chemotherapic action of strept. and promin in experimental tuberculosis (*Publ. Health Rep.*, 60 : 1129-1138, 28 septembre 1945).

272. Smith (M.I.), Mac Closky (W.T.) et Emmart (E.W.). — Influence of strept. and promin on proliferation of tubercle bacilli in tissus of albino rat. (*Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 62 : 157-162, juin 1946).

273. Smith (H.V.), Vollum (R.L.) et Cairns (H.). — Treatment of tuberculous meningitis with strept. A report

to the Medical research Council. (*Lancet,* 254 : 627-636, 24 avril 1948).

274. Spink (WW), Ferris (V) et Vivino (J.J.). — Comparative in vitro resistance of staphylococci to penicillin and to socium sulfathiazol (*Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.,* 56 : 207, 1944).

275. Spink (W.W.) et Hall (W.H.). — Diagnosis and treatment of Brucellosis (*M. Clin. North. America,* 29 : 343-362, mars 1945).

276. Spink (W.W.), Hall (W.M.) et Ferris (V.). — Clinical signifiance of staphylococci with naturel or acquired resistance to sulfamide and to penicillin. (*J. Amer. Med. Assoc.,* 128 : 551-559, 1945).

277. Spink (W.W.), Hall (W.H.), Shaffer (J.M.) et Brands (A.L.). — Human brucellosis. Its specific treatment with a combinaison of strept. and sulfadiazine (*J. A. M. A.* 136 : 382-387, 7 fév. 1948).

278. Stebbins (R.B.), Graessle (D.E.) et Robinson (H.J.). — Studies on the absorption and excretion of strept. in animals. (*Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.,* 60 : 68-72, oct. 1945).

279. Stebbins (R.B.) et Robinson (H.J.). — A method for determination of streptomycin body fluids (*Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.,* 59 : 255, 1945).

280. Steenken (W.) et Wolinsky (E.). — Strep. therapy in experimental tuberculosis of guinea-pigs infected intra-cerebrally with virulent tubercle bacilli. (*Science,* 106 : 638-639, 26 dec. 1947).

281. Sureau (B.). — Les dosages cliniques des antibiotiques. Valeur et résultats (*Annales de Biol. clinique,* 9 et 10 : 445-461, 1948).

282. Sureau (B.) et Chabbert (Y.). — Méthode de titrage biologique des antibiotiques dans le sang, le liquide céphalo-rachidien et les milieux organiques. Application aux dosages de la pénicilline et de la streptomycine (*Biologie Médical,* 37, n° 1 et 2, 1948).

283. Sureau (B.), Depin (F.) et Schurr (O.). — Titrage biologique de la pénicilline dans le sang et le liquide céphalo-rachidien en présence d'un indicateur du pH. (*Soc. Franc. de microb. Ann. Inst. Pasteur,* 72 n° 7 et 8 : 665-667, 1946).

284. Tison (F.), Praz (C.). — L'actualité phtisiologique. Mesure de la streptomycino-résistance du bacille tuberculeux en pratique sanatoriale (*La semaine des Hôpitaux,* 39 : 1.685, 26 mai 1949).

285. Tison (F.). — Persistance des caractères morphologiques et biologiques des bacilles de Koch dans les produits expédiés au Laboratoire (*Annales Institut Pasteur.* 73, n° 7 : 684, 1947.

286. Valtis (J.), Van Deinse (F.) et Solomides (J.). — Essais de culture de B.K. dans le milieu de Dubos (*Annales de l'Institut Pasteur,* 74 : 134. 1948).

287. Viaud (C.). — Tuberculoses miliaires pulmonaires de l'adulte. Leurs traitements par la streptomycine *Thèse,* Bordeaux 1949, Decluses éd.).

288. Vincent. — (*Proc. Soc. Exp. Biol. Méd.,* 55 : 162, 1944).

289.—Vincent et Birge. — Culture du bacille tuberculeux en partant du suc gastrique. Etude des facteurs qui influences la culture de mycobacterium tuberculosis du suc gastrique (*American Review of tuberculosis,* 55 : 556-571, juin 1947).

290. Waksman (S.A.), Bugie (E.) et Schatz (A.). — Isolation of antibiotic substances from soil micro-organims with special references to streptomycin (*Proc. Staff Meet Mayo Clin.,* 19 : 537-548, 15 novembre 1944).

291. Waksman (S.A.) et Reilly (H.C.). — Bactericidal Action of antibiotic substances (*J. Inf. Dis.,* 75 : 150-159, 1944).

292. Waksman (S.A.), Reilly (H.C.) et Schatz (A.). — Strain specificity and production of antibiotic subs-

tances : V. Strain resistance of bacteria to antibiotic substances, especially to Strept. (*Proc Nat. Acad. Sc.*, 31 : 157-164, juin 1945).

293. Waksman (S.A.) et Schatz (A). — Strept. : Origin, nature and Properties (*J. A. P. A.* (Scient edition), 34 : 273-291, nov. 1945).

294. Waksman (S.A.) et Schatz (A.). — (*J. Amer. plarm. Ass.*, (Sci. ed.) 34 : 273, 1945).

295. Wolinsky (E.) et Steenken (W.Jr.). — Strept. and penicillin resistant staphylococci : influence of pH body fluids on Strept. treatment. (*Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, 62 : 162-165, 1946).

296. Wolinsky (E.) et Steenken (W.). — Effect. of Strept. on the tubercle bacillus. The use of Dubos and other media in tests for Strept. sensitivity. (*Am. Rev. Tuberc.*, 55 : 281-288, mars 1947).

297. Woltz (J.) et Wiley (N.M.). — Transmission of strept. from intestinal blood to the fetal circulation and the amniotic fluid. (*Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, 60 : 106-107, oct. 1945).

298. Youmans (G.P.). — The effect of strept. « in vitro » on Mycob. Tuberculosis, var, hominis. *Quart. Bull. Northwest. University Med. School*, 19 : 207, 1945).

299. Youmans (G.P.), Feldman (W.H.). — The sensitivity of tubercle bacilli in vitro to streptomycin. (*J. Bact.*, 51 : 608, 1946).

300. Youmans (G.P.), Karlson (A.G.). — Strept. sensitivity of tubercle bacilli : studies on recently isolated tubercle bacilli and the development, of resistence « in vivo » (*Am. Rev. Tuberc.*, 54 : 529-535. juin 1947).

301. Youmans (G.P.) et Mac Carter (J.C.). — A preliminary note on the effect of strept. on experimental tuberculosis of white mice (*Quart. Bull. Northwest, Univ. Med. School*, 19 : 210, 1945).

302. Youmans (G.P.) et Mac Carter (J.C.). — Strept. in experimental tuberculosis : its effect on tuberculosis in mice produced by myc. tuberculosis var hominis. (*Am. Rev. Tuberc.*, 52 : 432-439, nov. 1948).

303. Youmans (G.P.), Willinston (E.G.), Feldman (W.H.) et Hinshaw (H.C.). — Increase in resistance of tubercle bacilli to strept. : A preliminary report. (*Proc. Staff Meet. Mayo Clin.*, 21 : 126-127, mars 1946).

304. Zaslow (J.), Counseller (V.S.) et Heilman (F.R.). — The excretion and concentration of penicillin an strept. in the abnormal biliary tract : preliminary report. (*Proc. Staff Meet. Clin. Mayo*, 21 : 94-96, 20 fév. 1946).

305. Zaslow (J.), Counseller (V.S.) et Heilman (F.R.). — The excretion and concentration of penicillin and Strept. in abnormal biliary tract. (*Gall blader surg. Gyn. Obst.*, 84 : 16, 22 janvier 1947).

306. Zaslow (J.), Counseller (V.S.) et Heilman (F.R.). — The excretion and concentration of penicillin and strept. in abnormal biliary tract. II. Hepatic bile (*Surg. Gyn. Obst.*, 84 : 141-152, février 1947).

307. Zintel (H.A.), Flipping (A.C.), Nichols (A.), Wiley (M.M.), Rhoads (J.E.). — Studies on streptomycin in man, absorption, excretion, distribution, toxicity. (*Amer. Journ. Med. Sciences*, 210 : 421-430, 1945).

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION 9

CHAPITRE PREMIER. — *Méthodes de dosages* 13

I. Les méthodes biologiques 13

II. Les méthodes chimiques 33

CHAPITRE II. — *Absorption, diffusion, élimination de la streptomycine dans l'organisme* 41

I. *Résorption* 43

II. *Circulation de la stroptomycine. Concentration dans le sang en fonction des doses injectées* 45

a) Injections de 166 mgr. 46

b) Injections de 333 mgr. 48

c) Injections de 500 mgr. 51

d) Injections de 1 gr. 53

e) Comparaison des courbes de concentrat. 58

f) Utilisation des véhicules retards 66

III. *Diffusion dans l'organisme* 69

A. — Diffusion dans le L.C.R. 70

I. Intérêt diagnostique 73

II. Intérêt thérapeutique 76

III. Intérêt pronostique 79

IV. Les injections par voie sous-arachnoïdiennes 81

B. — Diffusion de la streptomycine dans les autres humeurs 86

1° Liquide pleural 86

2° Liquide péritonéal 86

3° Milieux de l'œil 87

4° Sang fœtal et liquide amniotique 88

C. — Distribution dans les tissus 89
IV. *Elimination de la streptomycine* 90
A. — Elimination dans l'urine 90
B. — Elimination biliaire 96

CHAPITRE III. — *Activité expérimentale de la streptomyc.* 99
A. — Activité in vivo 100
B. — Mesure de la sensib. d'un germe in vitro. 104
I. Principe des méthodes 104
II. Les méthodes 107
1° Méthodes de dilution 107
2° Méthodes par diffusion 109
3° Méthode de sensibilité pour B. K. (milieu de DUBOS) 110
III. Résultats sensibilité des espèces microbiennes 117
a) Sensibilité des germes autres que le B. K 117
b) Sensibilité des souches de B. K 124

CHAPITRE IV. — *Données biologiques et résultats chimiq.* 133

CHAPITRE V. — *Conclusions* 139

BIBLIOGRAPHIE 145